



INIA
INSTITUTO NACIONAL
DE INVESTIGACIONES
AGRÍCOLAS

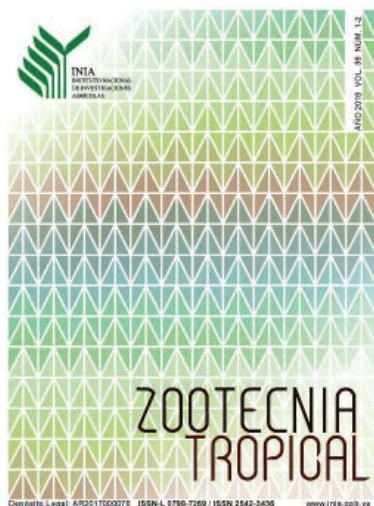
AÑO 2018 VOL. 36 NÚM. 1-2

ZOOTECNIA TROPICAL

Depósito Legal: AR2017000076 ISSN-L 0798-7269 / ISSN 2542-3436

www.inia.gob.ve

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS



ISSN-L 0798-7269 / ISSN 2542-3436
Dep. Legal: AR2017000076

ZOOTECNIA TROPICAL Es publicada para la socialización del conocimiento científico y humanístico, en los diferentes componentes de los sistemas de producción animal: bovinos, suínos, caprinos, ovinos, aves, especies piscícolas y otras, con el propósito de garantizar la producción de proteína de origen animal con fines alimentarios.

Correo electrónico: zootropi@gmail.com

Miembros Fundadores:

Claudio Chicco	Fonaiap Ceniap
Alberto Valle	Fonaiap Ceniap
Eduardo González	UCV-Agronomía
Omar Verde	UCV-Veterinaria
Omar García	Fonaiap Ceniap
Rafael Acosta	Fonaiap Guárico
Sylbert Labbe	Fonaiap Zulia
Urzulino Manrique	Fonaiap Monagas
Arnaldo Alvarado	Fonaiap Barinas

Comite Editorial

Belkys Vásquez	Editora Jefe
Reine Mejias	Editora Asistente
Oscar De La Rosa	Editor Técnico
Oscar De La Rosa	Diagramación

Giomar G. Blanco E.	Presidente
Deisy Carvajal	Gerente General
Nohelia R. Rodríguez O.	Gerente de Investigación
Doris Blanco E.	Gerente de Desarrollo Tecnológico
Carlos Hernández	Gerente de Producción Social
Nicolas García	Gerente de Participación y Desarrollo Comunitario

Editores Asociados

Juan A. Vergara L.(LUZ-Venezuela)	Sección Alimentación Animal
Luis C. Dickson U.(INIA-Venezuela)	Sección Genética
Débora M. Paxiao (PECEGE-Brasil)	Sección Genética Molecular
Oscar De La Rosa (INIA-Venezuela)	Sección Genética Molecular
Oziel D. Montañez V. (UDG-Mexico)	Sección Nutrición
José J. Alió M.(ULEAM-Ecuador)	Sección Piscicultura y Acuicultura

Consejo Asesor

Omar G. Verde S.	Venezuela
Juan F. Capote A.	España
Glafiro Torres H.	México
Manuel E. Milla P.	Venezuela
Bertha Chongo G.	Cuba
Siomara Martínez M.	Cuba
Miguel Batista A.	España
Carlos M. Becerril P.	México

Indización

Biosis Zoological Records	(EUA)
Agroforestry Abstracts	(EUA)
IICA - CIDIA	(Costa Rica)
Tropag & Rural	(Holanda)
AGRIS - FAO	(Italia)
LATINDEX	(México)
IAMSLIC	(USA)
PERIÓDICA	(México)
MEDIATHEK	(Alemania)
Base Agrícola Venezolana	(Venezuela)
Bioline International	(Canadá)
SCIELO	(Venezuela)
SCOPUS	(EUA)
OEI	(Colombia)
Citefactor	(Canadá)

Editada por la Gerencia de Investigación
Coordinación del Área de Gestión
de la Información

ZOOTECNIA TROPICAL

Revista científica del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas,
Ministerio del Poder Popular para la Agricultura Productiva y Tierras
Maracay, Venezuela

EDITORIAL

La publicación científica forma parte importante en el proceso de generación del nuevo conocimiento; este es utilizado por estudiantes, docentes, científicos e innovadores, con el fin de seguir creando conocimiento. Así mismo, el desarrollo tecnológico ha impactado todos los ámbitos de la vida humana, con especial énfasis en el incremento de la accesibilidad, alcance y difusión de la información, esto último ha producido cambios importantes en la comunicación científica.

No cabe duda del cambio ocurrido con la publicación científica desde la última década del siglo 20, en la que se observó no sólo la transición de la edición y distribución en soportes impresos a medios digitales, también se experimentaron grandes cambios evolucionarios producto de este paso (Keefer 2007). Entre estos cambios se encuentra la iniciativa Open Access (OA) que promueve el acceso gratuito y sin barreras al conocimiento científico.

La iniciativa OA requiere de herramientas que permitan el manejo eficiente, unificado y a bajo costo del proceso editorial. El requerimiento anterior se ha cristalizado con el Open Journal System (OJS), desarrollado por el Public Knowledge Project (PKP). En los últimos años, el OJS se ha consolidado como la principal herramienta para el acceso a los resúmenes y texto completo de los documentos publicados en revistas científicas de cualquier parte del mundo (García Arieto 2014).

En sintonía con las tendencias mundiales, la revista Zootecnia Tropical inicia el año 2018 con la publicación de los números 1-2, del volumen 36, implementando su plataforma OJS, la cual irá incorporando mejoras en los próximos meses. Así mismo, la revista se publica en un nuevo dominio web e incorpora cambios en su diseño de portada.

En este número encontraremos contribuciones de Venezuela y otros países, orientadas en las áreas de alimentación animal, acuicultura, recursos zoogenéticos, biotecnología, tecnología de alimentos y forrajes. Las mismas incluyen estudios sobre la degradación ruminal de *Sorghastrum setosum* (Argentina), efecto de la torta de macaúba sobre la población fúngica ruminal (Brasil), determinación de la época de cosecha del mejillón (Venezuela), análisis de la diversidad genética del cerdo criollo (Venezuela), evaluación del crecimiento de la cachama negra (Venezuela), evaluación de la goma de Acacia como aditivo alimentario (Brasil), evaluación de la calidad de semillas de *Panicum maximum* (Brasil) y prevalencia de *Gallibacterium anatis* (Colombia).

Como siempre ha sido la política editorial de Zootecnia Tropical, se coloca a disposición de todos los interesados los contenidos científicos. Además de lo anterior, a partir de este número se ofrece una plataforma amigable para acceder a estos contenidos, manteniendo una política de acceso abierto.

Esperamos que los cambios introducidos contribuyan con una lectura más agradable y eficiente.

Belkys J. Vásquez M.

TABLA DE CONTENIDO Vol. 36 N° 1-2

Artículos Científicos

Slanac, AL; Kucseva, CD; Balbuena, O; Rochinotti, D.

- Degradación ruminal en bovinos de la proteína cruda de la paja amarilla (*Sorghastrum setosum*) a diferentes edades de rebrote y estaciones del año** 7
*(Ruminal degradation of crude protein from yellow straw (*Sorghastrum setosum*) of different age of regrowth and seasons of the year in cattle).*

Galíndez, R; Ramis, C; Martínez, G; Ángulo, L.

- Uso de marcadores microsatélites para el análisis de paternidad en cerdos Criollos venezolanos** 17
(Microsatellites use to paternity analysis in venezuelan Creole pigs).

González, A; Mendoza, J; Arocha, F; Márquez, A.

- Estimación de la edad y crecimiento de la cachama negra mediante la inferencia multimodal, en la región media del Orinoco en Venezuela** 27
(Age and growth estimation of the black cachama through multimodal inference in the middle Orinoco region in Venezuela).

Torres, MG; Pozza, MGS; Puntel, MO; Vital; ACP; Pintro, PM; Madrona, GS.

- Effects of the addition of gum Acacia and probiotics to yogurts with low sugar and fat contents** 41
(Efectos de la adición de goma de Acacia y probióticos a yogures con bajo contenido de azúcar y grasa).

Frontado, J; Licet, B; Acosta, V.

- Uso de índices de condición para la determinación de la época de cosecha del mejillón en el golfo de Cariaco, Venezuela** 51
(Use of condition indices for the determination of the mussel harvest time in the gulf of Cariaco, Venezuela)

TABLA DE CONTENIDO Vol. 36 N° 1-2**Notas Técnicas**

Viteri A., C; Muñoz P., J; Duque M., L.

Prevalencia y caracterización de aislamientos de *Gallibacterium anatis* en regiones avícolas colombianas durante el periodo 2013-2014 61
(Prevalence and characterization of Gallibacterium anatis isolates in Colombian poultry regions during the 2013-2014 period)

Andrade, WR; David, AMSS; de Sales, ECJ; David, GSS; Figueiredo, JC; Monção, FP; Lacerda, EA; Machado, SM

Avaliação da qualidade física e fisiológica de sementes de capim-Mombaça de diferentes procedências 71
(Evaluation of the physical and physiological quality of Mombasa grass seeds from different sources).

dos Santos, ACR; Barbosa, PM; de Azevedo, RA; Baldassini, WA; Duarte, ER; Geraseev, LC.

População fúngica aeróbia ruminal de ovinos recebendo torta de macaúba 79
(Population of ruminal aerobic fungi in lambs fed with macaúba meal)

Instrucciones al autor 85

Degradación ruminal en bovinos de la proteína cruda de la paja amarilla (*Sorghastrum setosum*) a diferentes edades de rebrote y estaciones del año

Alcides L. Slanac^{1*}, César D. Kucseva², Osvaldo Balbuena^{2,3}, Diego Rochinotti⁴

¹Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina. ²INTA, Colonia Benítez (Chaco). ³Cátedra de Nutrición y Alimentación, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina. ⁴INTA (Mercedes, Corrientes). *Correo electrónico: alslanac@vet.unne.edu.ar.

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la degradación en rumen de bovinos de la proteína cruda (PC) de *Sorghastrum setosum* (paja amarilla) en distintas épocas del año, se recolectaron muestras a 5 cm de altura, correspondientes a los 15, 30 y 45 días de rebrote, y se utilizó la técnica de suspensión *in situ* de bolsas de dacrón en el rumen de novillos cruza cebú de 550 kg de peso vivo, provistos de fístula ruminal, las bolsas fueron incubadas durante 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 y 120 horas. Los datos se ajustaron con el modelo propuesto por Ørskov y McDonald (1979). Los parámetros de la curva de degradación y la degradabilidad efectiva fueron analizados mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS. Los resultados obtenidos de la degradabilidad ruminal de la PC para el rebrote de 15 y 45 días, muestran que la fracción soluble (a) tuvo una tendencia a ser diferente entre las diferentes estaciones ($P = 0,06$ y $0,08$) respectivamente, no así el rebrote de 30 días. La fracción potencialmente degradable (b) y su tasa de degradación (c) solo fue diferente para el rebrote de 15 días ($P < 0,01$), la degradabilidad ruminal efectiva (DR) solo se diferenció ($P < 0,05$) en el corte de 15 días. No se encontraron diferencias en los demás parámetros de la cinética, esto sugiere que la técnica utilizada no fue sensible para diferenciar el efecto de los tiempos de rebrote y las estaciones del año.

Palabras clave: bovinos, degradabilidad ruminal, proteína cruda, *Sorghastrum setosum*

Ruminal degradation in cattle of crude protein from yellow straw (*Sorghastrum setosum*) of different age of regrowth and seasons of the year

ABSTRACT

In order to evaluate the degradation of the crude protein (PC) of *Sorghastrum setosum* (yellow straw) at different times of the year, samples were collected at 5 cm high, corresponding to 15, 30 and 45 days of regrowth and the technique of *in situ* suspension of dacron bags was used in the rumen of zebu steers of 550 kg liveweight, provided with ruminal fistula, the bags were incubated for 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 and 120 hours. The data were adjusted with the model proposed by Ørskov and McDonald (1979). The parameters of the degradation curve and the effective degradability were analyzed using the GLM procedure of the SAS statistical package. The results obtained from the ruminal degradability of the PC for the regrowth 15 and 45 days, show that the soluble fraction (a) had a tendency to be different between the different stations ($P = 0.06$ and 0.08) respectively, not so the regrowth 30 days. The potentially degradable fraction (b) and its degradation rate (c) was only different for the 15-day regrowth ($P < 0.01$), the effective ruminal degradability (DR) only differed ($P < 0.05$) in the cut of 15 days. No differences were found in the other parameters of kinetics, this suggests that the technique used was not sensitive to differentiate the effect of regrowth times and seasons.

Key words: bovines, rumen degradability, crude protein, *Sorghastrum setosum*

Aprobado: junio 2018

INTRODUCCIÓN

La cantidad y calidad de los pastos tropicales depende de diferentes factores, que pueden ser inherentes al ambiente y/o la especie (Lemaire *et al.* 2000). Por otra parte, las evaluaciones de forrajes tropicales consideran diversas variables de producción y nutrición, especialmente en la época de sequía, cuando disminuyen de manera drástica la disponibilidad y la calidad de los forrajes (Cuartas *et al.* 2014), pero cada variable es analizada de forma independiente (Gates *et al.* 2001). La edad de corte, es un factor determinante para la producción y calidad del forraje, se sabe que, con el envejecimiento de la planta, el tenor de humedad se reduce y por lo tanto aumenta la producción de materia seca (Sa *et al.* 2010).

La interpretación de la cinética de degradación de los alimentos para rumiantes ha tomado especial importancia en los sistemas de suplementación y un ejemplo específico se tiene con la proteína. Para hacer un uso adecuado de los sistemas de suplementación proteica, es necesario tener información acerca de la degradación ruminal de la proteína presente tanto en el forraje como en el suplemento. Los sistemas propuestos para calcular los requerimientos proteicos en rumiantes han reconocido la importancia de la degradación proteica en el rumen, como el principal factor que determina la cantidad de proteína que se absorbe en el intestino delgado (Naranjo y Cuartas 2011).

Los métodos utilizados para estimar el valor de proteína del alimento para rumiantes se basan en la caracterización de las fracciones nitrogenadas del alimento y consideran el proceso de fermentación del rumen. Los valores de la fracción de proteínas permiten estimar la cantidad de nitrógeno (N) en la dieta disponible para la síntesis de proteínas microbianas y la cantidad de (N) que escapa a la degradación en el rumen. Por lo tanto, la proteína real digerida y absorbida enzimáticamente en el intestino delgado dependerá de la fuente dietética y la fermentabilidad del rumen del alimento (Valderrama y Anrique 2011).

De acuerdo con Salcedo (2000), son varios los factores que intervienen en la degradabilidad de

la proteína, así como también el tipo de pastoreo y la altura de pasto inciden sobre la degradación ruminal. Considerando que el pasto no es estático a lo largo de su ciclo productivo, esto dificulta aún más la degradación, posterior utilización y por añadidura su predicción. Otros factores importantes que influyen en la concentración de proteína en el vegetal es la época del año, días fríos provocan mayor síntesis de carbohidratos solubles e incremento de la proteína (Vaz Martins y Messa 2007).

Las condiciones climáticas, influencias de lluvias y distribución anual de estas (Ramirez *et al.* 2010), atentan contra la calidad del forraje ya que el verano con elevada temperatura y alta humedad por mayores precipitaciones produce rápido desarrollo de las plantas y en invierno estas son quemadas por las heladas (Arias 2006). También las diferencias entre hábitos de crecimiento, morfología, metabolismo (Juárez-Hernández y Bolaños-Aguilar 2007), digestibilidad acompañada de mayor desarrollo y vigor, por ende, mayor disponibilidad de proteína (Ortega *et al.* 2011), desde el punto de vista fisiológico las gramíneas presentan una tasa de fotosíntesis más elevada y tolerancia superior a altas temperaturas (Del Pozo *et al.* 2011).

La fuente más importante de nitrógeno para los microorganismos ruminales procede normalmente de la proteína de la ración y del nitrógeno no proteico (NNP). La microflora ruminal es altamente proteolítica, por lo que gran parte de la proteína que llega al rumen es degradada hasta péptidos y aminoácidos (AA), la mayoría de los cuales son posteriormente desaminados (Ørskov 1988).

Los pastos con rápida degradación de la fibra son requeridos por los sistemas intensivos de producción animal basados en pasturas para maximizar el consumo y la productividad. Para seleccionar los cultivares que se degradan rápidamente, se debe utilizar un método de detección repetible, rápido y barato, de modo que se puedan evaluar grandes cantidades de muestras (Sun y Waghorn 2012). La desaparición *in sacco* es usada frecuentemente para estimar la proteína no degradable, pero el mayor problema es la

influencia de la contaminación provocada por la proteína microbiana. El nitrógeno proporcionado por las bacterias debería ser restado como nitrógeno residual o no degradable (Michalet-Doreau y Ould-Bah 1992). La técnica *in situ*, es fácil y de rápida ejecución, requiere pequeña cantidad de muestra, permite el contacto íntimo con el ambiente ruminal, no existiendo una mejor forma de simulación del rumen (Evangelista *et al.* 2002), a pesar de ello, el alimento no está sujeto a todos los eventos digestivos, como la masticación, rumiación y tasa de pasaje (Vieira 1995).

Otro problema potencial que se debería tener en cuenta en el procedimiento *in sacco* es la suposición que la proteína es soluble y pasa afuera de la bolsa y es degradada instantáneamente (Spencer *et al.* 1988). A pesar de que existen varios métodos para estimar la degradabilidad ruminal de la proteína de los forrajes, el método más popular es el de la bolsa *in situ* (Olaisen *et al.* 2003). El objetivo del presente trabajo fue evaluar la cinética de la degradación ruminal de la proteína cruda (PC) de *Sorghastrum setosum* (paja amarilla) en rumen de bovinos alimentados con pastura natural en distintas épocas del año.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material vegetal evaluado, fue recolectado en la Estación Experimental Colonia Benítez del INTA (Chaco, región noreste Argentina). Antes de la colecta se realizó un corte de limpieza con guadañadora mecánica y se retiró el material cortado, las muestras de *Sorghastrum setosum* fueron tomadas por medio de cortes con tijeras a 5 cm de altura de todo el material disponible en condición de pastoreo, dentro de un marco de 50 x 50 cm, con cortes a los 15, 30 y 45 días de rebrote.

Una vez pesadas, las muestras se colocaron en bolsas de papel y secadas en estufa de aire forzado a 55°C durante 72 horas, posteriormente fueron pesadas y molidas con molino de cuchillas con mallas de 2 mm. Para medir la desaparición de PC se utilizaron dos novillos cruzados de 550 kg de peso vivo (PV) provistos de fístula ruminal, que fueron mantenidos en potreros con pastura natural. Los animales recibieron *ad*

libitum un suplemento mineral que contenía Ca (12 %), P (8 %) y microelementos vehiculizados en sal común.

Para la medición de la degradabilidad ruminal se utilizó la técnica de suspensión *in situ* de bolsas de dacrón (Ørskov *et al.* 1980). En cada bolsa de 9,5 x 18 cm, con una porosidad de 50 µm, se colocaron 5 gramos de material seco de la pastura, que fueron introducidas en el rumen en forma secuencial con los siguientes tiempos: 120; 72; 48; 24; 12; 6; 3 y 0 horas. Transcurrido el tiempo de incubación correspondiente, las bolsas fueron retiradas del rumen, sumergidas en agua fría por 5 min y lavadas bajo agua corriente. Por último, las bolsas fueron secadas en horno a 55°C durante 72 h y posteriormente pesadas.

Los datos obtenidos en degradación de la proteína cruda (PB%) fueron ajustados al modelo propuesto por Ørskov y McDonald (1979):

$$PB\% = a + b(1 - e^{-ct})$$

donde PB% es la degradabilidad de la PB al tiempo "t"; "a" es la fracción soluble; "b" es la fracción de degradación lenta; "c" es la tasa de degradación de "b", en horas; "t" es el tiempo de incubación en el rumen, en horas y "e" es la base de los logaritmos naturales. De igual forma, se calculó la degradabilidad efectiva (DE%) de acuerdo a la ecuación de los mismos autores:

$$DE\% = a + \left[\frac{(b \times c)}{(c + kp)} \right]$$

donde DE% es la degradabilidad efectiva; "a", "b" y "c" son los mismos parámetros de la ecuación anterior y "kp", es la tasa de pasaje (entre 2 y 4 %/hora).

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con un arreglo factorial de tratamientos, 1 (pastura) x 3 (cortes) por 4 (estaciones) con 2 repeticiones en dos animales. Se estimó la varianza de los parámetros de degradación "a", "b", "c", la degradación efectiva (sumatoria de "a" + "b") y la tasa de degradación "kd".

Se analizó el efecto de la edad de rebrote sobre la degradabilidad, mediante un análisis de varianza (ANOVA) y el procedimiento de modelos lineales

generales (GLM) del paquete estadístico SAS (2010). Para la comparación múltiple de medias se efectuó una prueba de Tukey. Se estipuló un riesgo alfa de 5 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los porcentajes de proteína bruta en promedio de las edades de corte de esta gramínea, medidos en las distintas estaciones del año, muestran diferencias ($P < 0,05$) en cuanto al contenido (10,8; 9,6; 7,00 y 6,8 %) para otoño, invierno, primavera y verano respectivamente, proporciones que fueron declinando a medida que maduraba la planta, a excepción del verano, donde los valores fueron menores, que se corresponderían con los altos rendimientos del forraje para esta época del año.

La degradabilidad ruminal para los rebrotes de 15 días en las distintas estaciones del año (Cuadro 1), mostraron diferencias ($P < 0,05$), para la fracción de degradación lenta "b", donde el mayor porcentaje de degradación lo presentó la época otoñal, con valores similares para la primavera, diferenciándose del periodo invernal que tuvo un comportamiento semejante a la primavera y al verano, época esta que mostró un valor de degradación muy bajo (7,97 %). La tasa de degradación de "b", en cambio mostró el valor más alto para la época del verano (63,53 %), similar a la primavera (48,25 %). En esta época se obtuvieron valores similares al invierno (44,32 %), los cuales se diferencian a los observados en otoño (21,57 %).

La degradabilidad ruminal (DR) con tasas de pasaje al 2 y 4 % fueron estadísticamente diferentes ($P < 0,05$), la tasa de pasaje al 2 % mostró mayor degradación (58,99; 50,49; 41,85 y 34,58 %) para otoño, invierno, primavera y verano respectivamente. Comparados con la tasa de pasaje del 4 %, en cambio los valores muestran semejanza entre las épocas de verano (33,65 %), primavera (36,26 %) e invierno (47,55 %), siendo diferente a los valores mostrados por el otoño (51,99 %), y a su vez este no fue diferente a invierno.

La cinética de degradación ruminal de la PC para el rebrote de 15 días en los distintos tiempos de incubación (Cuadro 2), no mostró efecto para las 0, 3, 12, 24 y 48 horas. Se observaron efectos para la muestra que tuvo 6 horas de incubación, donde el porcentaje de degradación fue similar para otoño (45,03 %), invierno (39,13 %) y verano (31,98 %), pero difiere de los valores observados para la primavera (14,24 %; $P < 0,05$). La muestra que se mantuvo dentro del rumen durante 72 horas, presentó valores de degradación de PC similares para el otoño (71,29 %) y el invierno (57,01 %), de igual manera, los resultados obtenidos en invierno fueron similares a los alcanzados en la primavera (50,92 %), los resultados anteriores difieren de los alcanzados durante el verano (22,06 %; $P < 0,05$). A las 120 horas de incubación, se detectaron diferencias ($P < 0,05$), entre la degradación ruminal de la PC en otoño (75,17 %); invierno (55,65 %); primavera (51,94 %) y el verano (7,42 %).

La degradabilidad ruminal de la PB de la paja amarilla a los 30 días no presentó diferencias

Cuadro 1. Parámetros de degradabilidad ruminal *in situ* de PB de *S. setosum* a 15 días de rebrote en distintas estaciones del año.

Parámetros de cinética ruminal	Época del año				EE	P
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano		
a (%)	37,06	35,17	14,91	28,50	4,08	0,06
b (%)	41,37 ^a	20,50 ^{bc}	36,84 ^{ab}	7,97 ^c	3,32	0,01
c (%)	21,57 ^a	44,32 ^b	48,25 ^{bc}	63,53 ^c	3,26	0,01
kd (%h ⁻¹)	0,022	0,081	0,057	0,037	0,004	0,50
DR2 (%)	58,99 ^a	50,49 ^{ab}	41,85 ^{bc}	34,58 ^c	2,63	0,01
DR4 (%)	51,99 ^a	47,55 ^{ab}	36,26 ^b	33,65 ^b	2,71	0,02

EE: error estándar; p: probabilidad; a: fracción soluble; b: fracción de degradación lenta; c: tasa de degradación de b; kd: tasa de degradación; DR: degradación ruminal. Medias en filas seguidas de letras distintas difieren entre sí ($P < 0,05$) por el test de Tukey.

significativas entre estaciones para los parámetros evaluados.

La cinética de degradación *in situ* de la PC de la paja amarilla para el rebrote de 30 días, mostró que para la hora 0 fue diferente entre las distintas estaciones de corte ($P < 0,05$), revelando que otoño, primavera y verano tuvieron una solubilidad parecida (31,93; 30,98 y 32,36 %), la que se diferencia de invierno que mostró valores de 27,51 %. Todos los demás horarios no mostraron diferencias ($P > 0,05$). Se puede afirmar que tomando valores del ensayo *in situ* para el horario de mayor permanencia en el rumen (120 h), la estación que mostró mayor degradabilidad fue el verano (58,09 %), seguidas por primavera (57,63 %), otoño (56,47 %) y la de menor valor fue invierno (54,47 %).

Para la degradabilidad ruminal de la PB en el rebrote de 45 días, no se observaron diferencias ($P > 0,05$). La fracción altamente soluble "a", con valores que oscilaron entre 31 y 39 % para las épocas de otoño, invierno y verano presentó una leve tendencia a ser diferente de la mostrada por primavera 26,53 % ($P = 0,0832$), este comportamiento es semejante a lo observado por otros autores, lo cual explica en base a que los follajes jóvenes tienden a poseer mayores valores de PC en comparación con los de edades superiores (Lara Mantilla 2010).

La cinética de degradación de la PC de este forraje para el rebrote de 45 días, mostró ser diferente solamente en dos horarios del ensayo *in*

situ. La hora 3 ($P = 0,0472$), resultó ser más degradable para el invierno (45,00 %), un comportamiento parecido lo presentó el verano (41,77 %) y otoño (35,85 %) que fueron diferentes a primavera con una degradabilidad del 32,18 %, a su vez esta resultó ser semejante a verano y otoño. Para la hora 120 ($P = 0,0335$), el verano resultó ser más degradable (66,23 %), con un comportamiento semejante se observó a el otoño (64,18 %), que se diferenciaron de invierno (54,86 %) y primavera (40,32 %). A su vez la estación invernal tuvo un comportamiento semejante a otoño y primavera. La hora 24, con una mayor degradabilidad para el otoño (52,20 %), seguida por invierno (51,15 %), verano (48,66 %) y primavera (42,56 %), muestran una leve tendencia a ser diferentes ($P = 0,0604$).

Numerosos factores afectan la proporción de PC degradada en el rumen en relación a la contenida en los alimentos. Las dos consideraciones más importantes de la química de la PC son: 1) las concentraciones proporcionales de nitrógeno no proteico (NNP) y la proteína verdadera (PV) y 2) las características físico-químicas de la proteína que comprende la fracción de proteína verdadera del alimento (Barrera *et al.* 2015, Nolan y Dobos 2005).

El valor nutritivo de un pastizal depende principalmente de las especies que lo componen; además es de esperar que en primavera muestre los mayores niveles de proteína y digestibilidad de la MS (Sampedro *et al.* 2004, Sun y Waghorn 2012).

Cuadro 2. Degradabilidad ruminal de la PB de *S.setosum* a los 15 días de rebrote en distintos horarios de incubación y diferentes estaciones del año

Incubación ruminal (h)	Época del año				EE	P
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano		
0	35,09	37,95	17,31	30,63	5,76	0,197
3	39,94	38,08	26,80	32,15	5,30	0,397
6	45,03 ^a	39,13 ^a	14,24 ^b	31,98 ^a	2,90	0,006
12	47,69	47,95	32,05	42,55	5,49	0,281
24	52,04	45,94	46,72	38,85	3,10	0,154
48	64,40	55,99	47,19	22,49	9,78	0,133
72	71,29 ^a	57,0 ^{ab}	50,92 ^b	22,06 ^c	3,45	0,002
120	75,17 ^a	55,65 ^a	51,94 ^a	7,42 ^b	4,12	0,001

EE: error estándar; P: probabilidad. Medias en filas seguidas de letras distintas difieren entre sí ($P < 0,05$) por el Test de Tukey.

En nuestro ensayo los valores de PC obtenidos oscilaron entre un 5 y 12,9 %, estos valores son comparables con lo reportados por Arthington y Brown (2005), quienes trabajando con *P. notatum*, *Hemarthria altissima* y *Cynodon dactylon*, observaron que en verano el valor de PB disminuye por debajo del 9 %. Sin embargo, los resultados de fibra insoluble en detergente neutro (FDN) son semejantes en el caso de pasto horqueta e inferiores respecto a los observados en nuestro trabajo en paja amarilla. Diferentes estudios han ratificado que los contenidos de FDN de los forrajes, están afectados significativamente por la edad de cosecha de las plantas (Barahona y Sánchez 2005).

Peruchena (2012), reporta valores coincidentes con nuestro trabajo, en ensayos realizados con *Digitaria decumbens* (5 a 12 %), *Dichantium aristatum* (8,2 %), *Setaria narok* (5 a 10 %), *Panicum maximum* (8 a 16 %) y *Hemarthria altissima* (5 a 10 %). Este autor observó los menores porcentajes de PC principalmente en verano, donde la alta velocidad de crecimiento se contrasta con la carga animal, expresada en equivalente vaca por hectárea, que presentan los sistemas extensivos (0,2 - 0,7 EV/ha), que provoca una baja utilización del forraje producido y una madurez acelerada, aumentando rápidamente el contenido de fibra y lignina, consecuentemente disminuye la concentración de PC y la digestibilidad de la materia orgánica.

De acuerdo con los resultados obtenidos para la PC, observamos valores por debajo del 7 % para los cortes de 15 y 45 días en la estación del verano (6; 6,2; 5 y 6 % respectivamente), siendo este un factor limitante en el consumo del pasto, según lo reportado para forrajes tropicales por Minson y Milford (1967). Además, este valor de PC (7 %) es aproximadamente el nivel mínimo requerido para obtener un balance de nitrógeno positivo, lo que sugiere que el control de la ingesta de N en la dieta debe ser la primera prioridad cuando se intenta mejorar la utilización de N en las vacas en pastoreo (Higgs *et al.* 2013); estos resultados concuerdan con los reportados por otros investigadores (Caro-Costas *et al.* 1978, Mendez-Cruz 1981).

En términos generales esta pastura presentó un valor nutritivo aceptable, con valores de PC que oscilaron entre el 5 y 12,9 %, comparándolo con los reportes de Bernal *et al.* (2008) quienes trabajaron con *P. notatum* en época de sequía y obtuvieron valores de 4 a 6 % para PC, y que también coinciden con los reportes de Maldonado y Velázquez (1994), mencionados por Bernal *et al.* (2008). Soto y Reinoso (2007), reportan para campo natural un nivel de PC con valores de adecuados a marginales (otoño 9,22 %; invierno 9,15 %; primavera 10,75 % y verano 8,63 %).

Principalmente los factores que afectan tanto la calidad como el crecimiento de los pastos, son las altas temperaturas sumado a la falta de lluvias. En las especies en las que la fijación de carbono ocurre en las células externas del mesófilo y el ciclo de Calvin se produce en las células internas de la vaina (C4), es de esperar que al aumentar la temperatura de la tierra disminuyan su calidad; este efecto tiende a ser pronunciado en pasturas monofíticas (compuestas por una sola especie) debido a la poca plasticidad que tienen frente a condiciones de estrés. En cambio, las praderas naturales al presentar una biodiversidad más grande tienen una mayor plasticidad para tolerar condiciones de este tipo, pero esto se traduce en una producción estacional (Patiño Ospina, 2010). Luego a partir de otoño, la falta de lluvias que puede extenderse durante el invierno y parte del inicio de la primavera, donde por efecto de las bajas temperaturas la calidad forrajera de los pastos presenta niveles muy bajos de PC, cuyos porcentajes no superan el 5 % (Rossi *et al.* 2002).

La degradabilidad de la proteína observada para paja amarilla varió entre un 36,47 y 78,43 %, posesionándola en un mejor nivel si la comparamos con estudios realizados por Bolívar e Ibrahim (1999), con *Brachiaria humidicola*, donde se observaron valores de PC menores al 5 % y altos contenidos de fibra; también son similares a otros resultados reportados para esta especie (Santana *et al.* 1993), *Pennisetum purpureum* (Soarez *et al.* 2009) o *Pennisetum clandestinum* (Ramirez *et al.* 2015).

La degradación de la fracción soluble y potencialmente degradable (“a”+“b”) de la PC, para *S. setosum*, en el corte de mayor edad ensayado (45 días) mostró valores de 59,89; 54,56; 42,78; 73,7 % para otoño, invierno, primavera y verano respectivamente; donde se puede apreciar que los mayores valores de degradación se presentan en las épocas de otoño y verano. Se reporta una estrecha relación entre la solubilidad de la PC y su degradabilidad (All y Stobbs 1980). La mayor solubilidad y degradabilidad de la PC están asociadas, en general, con un mayor nivel de amonio en el rumen y este puede contribuir en el incremento de la actividad de las bacterias ruminales, maximizando el consumo de dietas altas en fibra

La degradabilidad de la PC de la paja amarilla mostró diferencias significativas entre las distintas épocas y edades de corte, encontrándose la mayor a los 15 días de rebrote y para otoño (78,43 %) y para el corte de 45 días en verano (73,70 %). Esto permite inferir que para *S. setosum*, a partir de los 30 días de rebrote la degradabilidad de la PC disminuye con el estado fenológico del forraje, debido al aumento de las estructuras de sostén y de pared celular que acompaña a la madurez, limitando el acceso de las proteasas al citoplasma, que es donde se encuentra la mayor parte de la proteína potencialmente degradable, este comportamiento es semejante a lo observado por Lara *et al.* (2010). Según Devendra (1995), el fundamento de lo anterior es que los follajes jóvenes tienden a poseer mayores valores de PC en comparación con los de edades superiores.

En ensayos realizados con el fin de determinar el efecto de la edad de rebrote sobre valor nutricional de *P. purpureum* cv King grass (Chacón-Hernández y Vargas-Rodríguez, 2009) observaron que el contenido de proteína bruta fue de 9,56; 8,70 y 8,42 % para los cortes de 60, 75 y 90 días respectivamente, que fueron mejores que los reportados para *P. purpureum* CT-115, que para época lluviosa presentó un valor de 8,83 % y 7,92 % para la seca (Ramírez *et al.* 2008).

El contenido proteico varió de forma inversa con respecto a los cambios que se dieron en MS, coincidiendo con nuestra observación y la de

Juárez y Bolaños (2007). No obstante, a pesar de que Márquez *et al.* (2007) indican que se produce una disminución lineal de 0,18 % de proteína por cada día adicional de crecimiento, nosotros obtuvimos una tendencia de tipo cuadrática, coincidiendo con lo reportado por Chacón-Hernández y Vargas-Rodríguez (2009).

Estos resultados muestran lo complejo que resulta establecer un manejo agronómico de la pradera orientado a obtener el mayor valor de proteína bruta en el pasto a través de diferentes épocas climáticas. Al respecto Pérez *et al.* 2004, muestran que el porcentaje de nitrógeno en el pasto Mulato II (*Brachiaria* híbrido, CIAT 36087), se incrementa hasta la cuarta semana de edad, posteriormente empieza a descender.

Este tipo de cambio en el contenido de PC en paja amarilla, no fue detectado en ninguno de los tratamientos estudiados, probablemente por el reducido número de edades de corte estudiadas (15, 30 y 45 días). Sin embargo, en las épocas de otoño y verano, esta pastura presentó buen porcentaje de degradación.

Es probable que la respuesta observada en estas épocas se explique por una interacción entre factores ambientales, por ejemplo, humedad del suelo y temperatura ambiente (Juárez-Hernández y Bolaños-Aguilar 2007) y microbianos del suelo (Viera y Nahas 2005; Merkl *et al.* 2006), lo que permite incorporar de forma más efectiva los nutrientes a la planta.

CONCLUSIONES

La degradación ruminal de la PB, para *S. setosum* solo mostró diferencias a los 15 días de edad para las fracciones potencialmente degradable y no degradable, no encontrándose diferencias en los demás parámetros de la cinética, pero no fue afectada por la estación y la edad de corte, según el método *in situ*.

Se detectaron efectos de la edad de la planta y de las estaciones sobre algunos parámetros de degradación ruminal y sobre la degradabilidad efectiva, pero de forma muy variada e inconsistente, por lo que se sugiere que el método utilizado

no sería el más adecuado para las condiciones en las que se realizó el presente ensayo.

LITERATURA CITADA

- All, T; Stobbs, TH. 1980. Solubility of the protein of tropical pasture species and the rate of its digestion in the rumen. *Animal Feed Science and Technology* 5:183-192.
- Arias Usandivaras, LM. 2006. Controles climáticos de la productividad primaria de pastizales de la Provincia de Corrientes. Trabajo correspondiente al ciclo de intensificación para acceder al grado de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía.
- Arthington, JD; Brown, WF. 2005. Estimation of feeding value of four tropical forage species at two stages of maturity. *Journal of Animal Science* 83:1726–1731.
- Barahona, R; Sánchez, S. 2005. Limitaciones físicas y químicas de la digestibilidad de pastos tropicales y estrategias para aumentarla. *Revista Corpoica* 6(1):69–82.
- Barrera Álvarez, A; Avellaneda Cevallos, JH; Tapia Moreno, EO; Peña Galeas, MM; Molina Hidrovo, CA; Casanova Ferrein, LM. 2015. Composición química y degradación de cuatro especies de *Pennisetum* sp. *Ciencia y Tecnología* 8(2):13–27.
- Bernal, L; Ávila, P; Ramírez, G; Lascano, CE. 2008. Efecto de la suplementación con heno de *Calliandra calothyrsus* y *Vigna unguiculata* sobre la producción de leche para vacas Holstein x cebú en Colombia. *Archivos latinoamericanos de producción animal* 16(3):109–114.
- Bolívar Vergara, DM; Ibrahim, M. 2001. Solubilidad de la proteína y degradabilidad ruminal de *Brachiaria humidicola* en un sistema silvo-pastoril. Congreso Latinoamericano sobre Agroforestería para la Producción Agrícola Sostenible (1, 1999, Cali, Colombia). Cali, Colombia, 18 p.
- Caro-Costa, R; Abruña, F; Figarella, J. 1978. Effect nitrogen rates, harvest interval and cutting height on yield and composition of Star grass in Puerto Rico. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico* 56(3):267–279.
- Chacon Hernández, PA; Vargas Rodríguez, CF. 2009. Digestibilidad y calidad del *Pennisetum purpureum* cv. King grass a tres edades de rebrote. *Agronomía Mesoamericana* 20(2):399–408.
- Cuartas, C; Naranjo, J; Tarazona, A; Murgueitio, E; Chará, J; Ku Vera, J. 2014. Contribution of intensive silvopastoral systems to animal performance and to adaptation and mitigation of climate change. *Revista Colombiana de Ciencia Pecuaria* 27(2):76-94.
- Del Pozo, PP; Herrera, RS; Blanco, F. 2011. Bases ecofisiológicas del manejo de los pastos. In Milera Rodríguez, MDLC (ed.). André Voisin. Experiencia y aplicación de su obra en Cuba. La Habana, Cuba. Editorial Universitaria. p. 371-397.
- Devendra, C. 1995. Composition and nutritive value of browse legumes. In D'Mello, J.; Devendra, C. (eds.). *Tropical Animal Nutrition*. London, United Kingdom. CAB International. p 49–66.
- Evangelista, AR; Junqueira De Sales, EC; Teixeira, JC; Porto Rocha, G; Fonseca De Freitas, RT. 2002. Degradabilidade ruminal da materia seca e proteína bruta de cultivares de alfafa (*Medicago sativa* L.) *Ciência e Agrotecnologia* 26(6):1281-1288.
- Gates, RN; Mislevy, P; Martín, FG. 2001. Herbage accumulation of Three Bahiagrass populations during the cool season. *Agronomy Journal* 93(1):112–117.
- Higgs, RJ; Sheaham, AJ; Mandok, K; Van Amburg, ME; Roche, JR. 2013. The effect of starch, fiber, or sugar based supplements on nitrogen utilization in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science* 96(6):3857-3866.
- Juárez-Hernández, J; Bolaños-Aguilar, ED. 2007. Las curvas de dilución de la proteína como alternativa para la evaluación de pastos tropicales. *Universidad y Ciencia* 23(1):81–90.
- Lara Mantilla, C; Oviedo Zumaqué, LE; Betancur Hurtado, CA. 2010. Efecto de la época de corte

- sobre la composición química y degradabilidad ruminal del pasto *Dichantium aristatum* (Angleton). *Zootecnia Tropical* 28(2):275–281.
- Lemaire, G; Agnusdei, M. 2000. Leaf tissue turnover and efficiency of herbage utilisation. *In* Lemaire, G; Hodgson, J; Moraes, H; Nabinger, C; Carvalho, PCE. (eds.). *Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology*. Wallingford, United Kingdom. CABI Publishing. p. 265–267.
- Maldonado, G; Velásquez, JE. 1994. Determinación de la capacidad de carga y la ganancia de peso de bovinos en pastoreo de gramíneas del piedemonte amazónico de Colombia. *Pasturas Tropicales* 16(2):2–8.
- Márquez, F; Sánchez, J; Urbano, D; Dávila, C. 2007. Evaluación de la frecuencia de corte y tipos de fertilización sobre genotipos de pasto Elefante (*Pennisetum purpureum*). 1. Rendimiento y contenido de proteína. *Zootecnia Tropical* 25(4):253–259.
- Méndez-Cruz, A. 1981. Evaluación nutritiva de gramíneas forrajeras tropicales. ALPA. *Memorias* 16: 90.
- Merkel, N; Schultze-Kraft, R; Arias, M. 2006. Effect of the tropical grass *Brachiaria bizantha* (Hochst. Ex A. Rich.) Stapf on microbial population and activity in petroleum-contaminated soil. *Microbiological Research* 161:80-91.
- Michalet-Doreau, B; Ould-Bah, MY. 1992. Influence of hay making on *in situ* nitrogen degradability of forages in cows. *Journal of Dairy Science* 75:782.
- Minson, DJ; Milford, R. 1967. The voluntary intake and digestibility of diets containing different proportions of legume and mature Pangola Grass (*Digitaria decumbens*). *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry* 7(29):546–551.
- Naranjo, JF; Cuartas, CA. 2011. Nutritional characterization and ruminal degradation kinetics of some forages with potential for ruminants supplementation in the highland tropics of Colombia. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia* 6(1):9-19.
- Nolan, JV; Dobos, RC. 2005. Nitrogen Transactions in Ruminants. *In* Dijkstra, J; Forbes, JM; France, J. (eds.). *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism*. 2 ed. Wallingford, United Kingdom. CABI Publishing. p.177–207.
- Olaisen, V; Mejdell, T; Volden, H; Nesse, N. 2003. Simplified *in situ* method for estimating ruminal dry matter and protein degradability of concentrates. *Journal of Animal Science* 81:520–528.
- Ørskov, ER. 1988. *Nutrición Proteica de los Animales*. Zaragoza, España, Editorial Acribia. 178 p.
- Ørskov, ER; McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science* 92,499-503.
- Ørskov, ER; Hovell, FD; Mould, F. 1980. the use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production* 5(3):195-213.
- Ortega-Gómez, R; Castillo-Gallegos, E; Jarillo-Rodríguez, J; Escobar-Hernández, R; Ocaña-Zavaleta, E; Valles de la Mora, B. 2011. Nutritive quality of ten grasses during the rainy season in a hot-humid climate and ultisol soil. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 13: 481-491.
- Patiño Ospina, H. 2010. Optimización de la suplementación proteica de ganado de carne en pasturas de baja calidad (en línea). Consultado 22 oct. 2016. Disponible en <http://bit.ly/2tnnoQv>
- Pérez, JA; García, E; Enríquez, JF; Quero, AR; Pérez, J; Hernández, A. 2004. Análisis de crecimiento, área foliar específica y concentración de nitrógeno en hojas de pasto “mulato” (*Brachiaria* híbrido, cv.). *Técnica Pecuaria en México* 42(3):447–458.
- Peruchena, CO. 2012. Los forrajes y la alimentación para intensificar la producción de carne del norte argentino (en línea). Consultado 29 jul. 2015. Disponible en <http://bit.ly/38Jo8zl>

- Rossi, CA; Gonzalez, GL; Lacarra, H; Pereyra, AM; Chagra Dib, EP. 2002. Evolución de la proteína bruta en hojas de seis especies de ramoneo del Chaco árido (en línea). Consultado 29 jul. 2016. Disponible en <http://www.infogranjas.com.ar/index.php/agricultura/305>
- Ramirez, J; Posada, S; Noguera, R. 2015. Effects of Kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum*) age and different forage: concentrate ratios on methanogenesis. *Revista MVZ Córdoba* 20(3):4726-4738.
- Ramirez, J; Verdecia, D; Leonard, I. 2008. Rendimiento y caracterización química del *Pennisetum Cuba CT 169* en un suelo pluvisol (en línea). *Revista Electrónica de Veterinaria* 9(5). Consultado 26 feb 2015. Disponible en <http://bit.ly/2qQHd1w>
- Ramírez R, O; Hernández G, A; Carneiro, S; Pérez, P; J; de Souza Júnior, J; Castro R, R; Enríquez Q, JF. 2010. Características morfológicas y su influencia en el Rendimiento del pasto Mombaza, cosechado a diferentes intervalos de corte. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 12:303-311.
- Sá, JF; Pedreira, MS; Silva, FF; Bonomo, P; Figueiredo, MP; Menezes, DR; Almeida, TB. 2010. Fraccionamento de carboidratos e proteínas de gramíneas tropicais cortadas em três idades. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 62(3):667-676.
- Salcedo, G. 2000. Degradabilidad ruminal de la hierba en praderas aprovechadas bajo pastoreo rotacional en la zona costera de Cantabria. *Investigación agraria. Producción y sanidad animales* 15(3): 125-136.
- Sampedro, D; Vogel, O; Celser, R. 2004. Suplementación de vacunos en pastizales naturales. EEA. INTA. Mercedes, Corrientes Argentina. Serie Técnica N° 34.
- Santana, JR; Pereira, JM; Morero, MA; Spain, JM. 1993. Persistencia e qualidade proteica da consorciacao *Brachiaria humidicola* – *Desmodium ovalifolium* cv. Itabela sob diferentes sistemas e intensidades de pastejo. *Pasturas Tropicales* 15(2):2-8
- SAS Institute Inc. 2010. SAS/TATTM Guide for personal computers, Version 9.2. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Soares, JPG; Derezs, F; Arcury, PB; Salman, AKD; Oliveira, AD; Verneque, RS; Berchielli, TT. 2009. Degradabilidade ruminal e digestibilidade intestinal da proteína de capim- elefante com três idades de corte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 61(2):438-444.
- Soto, C; Reinoso, V. 2007. Suplementación proteica en ganado de carne. *Veterinaria (Montevideo)* 42(167):27-34.
- Spencer, D; Higgins, TJV; Freer, M; Dove, H; Coombe, JB. 1988. Monitoring the fate of dietary proteins in rumen fluid using gel electrophoresis. *British Journal of Nutrition* 60(2):241-247.
- Sun, XZ; Waghorn, GC. 2012. Improving in sacco incubation technique to evaluate fresh forage for selecting fast-degrading perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Grass and Forage Science* 67(3):437-445.
- Valderrama L, X; Anrique G, R. 2011. *In situ* rumen degradation kinetics of high-Protein forages crops in temperate climates. *Chilean journal of agricultural research* 71(4):572-577.
- Vaz Martins, D; Messa, A. 2007. Las bajas ganancias otoñales en bovinos, un fenómeno multicasual. *Revista INIA* (10):2-5.
- Vieira, RAM. 1995. Modelos matemáticos para estimativa de parâmetros da cinética da degradação do capim elefante cultivar Mineiro (*Pennisetum purpureum*, Schum.) em diferentes idades de corte. 1995 88 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, MG-UFV.
- Viera, FC; Nahas, E. 2005. Comparison of microbial numbers in soils by using various culture media and temperatures. *Microbiological Research* 160(2):197-202.

Uso de marcadores microsatélites para el análisis de paternidad en cerdos Criollos venezolanos

Rafael Galíndez^{1*}, Catalina Ramis², Gonzalo Martínez¹ y Luis Ángulo²

¹Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Instituto de Producción Animal, Aragua, Venezuela. ²Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Instituto de Genética, Aragua, Venezuela. *Correo Electrónico: galindez70@yahoo.com

RESUMEN

Con la finalidad de evaluar el uso de un conjunto de marcadores microsatélites para el análisis de paternidad en cerdos Criollos venezolanos, se seleccionaron individuos para la colecta de muestras de folículos pilosos en los poblados de Masaguaral (22), El Socorro (26), Guayabal (31) Arismendi (31) Capanaparo (29) y Cunaviche (32), asimismo se incluyeron 21 individuos de raza Landrace y 14 de raza Large White como referenciales. Se amplificaron 13 marcadores microsatélites y tipificaron los fragmentos mediante tinción con nitrato de plata (AgNO_3). Se calculó el número total y número medio de alelos (NTA, NMA), heterocigosis media observada y esperada (HMO, HME), índice de contenido polimórfico medio (PICM), probabilidad de exclusión con ausencia de información de los dos progenitores y un progenitor (PE2, PE1) y la probabilidad de exclusión combinada para ambos casos (PEC2, PEC1). Los resultados obtenidos indican la presencia de 63 alelos con NMA de 4,5. La HMO resultó en 0,499 (0,192 - 0,708). Se obtuvo un valor de 0,560 para HME (0,345 - 0,738). El PICM se ubicó en 0,496 (0,274 - 0,678). Los valores de PE1 resultaron superiores a PE2 para todos los loci, encontrándose valores de 0,980 y 0,990 para PEC2 y PEC1, considerando 10 marcadores. El panel de microsatélites propuestos tiene la utilidad y precisión necesaria para realizar pruebas de paternidad y registros genealógicos en los cerdos Criollos venezolanos basándose en el cálculo de la probabilidad de exclusión.

Palabras clave: alelos, heterocigosis, índice de contenido polimórfico, probabilidad de exclusión.

Microsatellites use to paternity analysis in venezuelan Creole pigs

ABSTRACT

To evaluate the use of a set of microsatellite markers to paternity analysis in venezuelan Creole pigs, taken hair follicles samples of 22 Masaguaral individuals, 26 of El Socorro, 31 of Guayabal, 31 of Arismendi, 29 of Capanaparo and 32 of Cunaviche, also, 21 individuals of Landrace and 14 Large White breeds were used as a reference. Thirteen microsatellite markers were amplified, and viewed the fragments by staining with silver nitrate (AgNO_3). It was calculated the total and average allele numbers (NTA, NMA), observed and expected mean heterozygosity (HMO, HME), medium polymorphic content index (PICM), exclusion probability with no information from the two parents and one parent (PE2, PE1), and combined exclusion probability for both cases. (PEC2, PEC1). Sixty - three alleles were visualized with NMA of 4.5. The HMO was 0.499 (0.192 - 0.708). HME was 0.560 (0.345 - 0.738). The PICM was 0.496 (0.274 - 0.678). The PE1 values resulted higher than PE2 for all loci, finding values of 0.980 and 0.990 for PEC2 and PEC1, considering 10 markers. The microsatellites panel proposed has the necessary utility and precision to perform paternity test and genealogical records in venezuelan Creole pigs, basing in exclusion probabilities tool.

Key words: alleles, heterozygosity, polymorphic content index, exclusion.

INTRODUCCIÓN

Los programas de mejora genética en especies animales de interés zootécnico que utilizan métodos cuantitativos, se fundamentan en las relaciones genéticas entre los individuos. En la actualidad, el procedimiento del mejor predictor lineal inesgado usado para calcular los valores genéticos es el más aceptado (Sifuentes *et al.* 2006).

En este sentido, es requisito obligatorio la correcta identificación de los individuos y su genealogía, de manera de obtener valores precisos de su potencial genético y poder establecer objetivos claros y confiables en dichos programas. En el caso de explotaciones porcinas donde no se tiene con precisión las relaciones de parentesco entre los progenitores y la progenie, existe una alta probabilidad de incurrir en errores de pedigrí, pudiéndose afectar de forma negativa el progreso genético por generación.

En este aspecto, se citan los marcadores de ADN como una herramienta eficaz para la asignación de paternidad en animales de interés doméstico; de ellos, los microsatélites resultan ser marcadores moleculares de amplio uso para tal fin, debido a su reproducibilidad, alta fiabilidad (mayor al 95 %), bajos costos en relación a otros marcadores moleculares, elevado polimorfismo y fácil interpretación (Aranguren *et al.* 2005, Riojas *et al.* 2006).

A pesar de que el nivel tecnológico disponible para las explotaciones porcinas permite tener mucha precisión en la identificación de la genealogía, el manejo errado de los reproductores, así como los errores en los registros de inseminación y registros de montas dirigidas, pueden ocasionar fallas en el árbol genealógico.

Es por esto, que más allá de la importancia de registrar la progenie como requisito fundamental de los libros genealógicos y el correcto cálculo de los valores genéticos, las pruebas de paternidad son importantes como herramientas auxiliares en la determinación precisa del valor de cría en las explotaciones porcinas selectas (Delgado *et al.* 2005, Behl *et al.* 2017) y en aquellas poblaciones

donde no se llevan registros precisos de la identificación y los apareamientos.

Con respecto al último punto mencionado, esto es de gran importancia en las poblaciones de cerdos Criollos venezolanos, puesto que los sistemas de explotación son predominantes extensivos. La presente investigación tiene como finalidad evaluar el uso de un conjunto de marcadores microsatélites para el análisis de paternidad en cerdos Criollos venezolanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron muestras de folículos pilosos de cerdos Criollos venezolanos en los poblados de Masaguaral (22), El Socorro (26) y Guayabal (31) en el estado Guárico; Arismendi (31) en el estado Barinas; Capanaparo (29) y Cunaviche (32) en el estado Apure, asimismo se incluyeron 21 individuos de la raza Landrace y 14 de la raza Large White de una explotación intensiva en el estado Carabobo, como referencias externas.

Las muestras fueron analizadas en el Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola en el Instituto de Genética de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, ubicado en la ciudad de Maracay, estado Aragua, Venezuela.

El ADN genómico de los folículos pilosos fue aislado usando nitrógeno líquido y acetato de sodio ($C_2H_3NaO_2$) según el protocolo descrito por Galíndez *et al.* (2011). Las reacciones de PCR se llevaron cabo en un equipo termociclador marca BIORAD, modelo PTC-100, con el programa presentado en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Perfil termico usado para las reacciones de PCR.

FASE		T ¹ (°C)	t ² (s)
Desnaturalización inicial		95	240
40 ciclos	Desnaturalización	95	30
	Hibridación	específica cebador	60
	Extensión	72	120
Extensión Final		72	600

¹Temperatura termociclador. ²Duración de la fase.

La composición de la solución de reactivos usada para la amplificación por PCR, y las secuencias nucleotídicas del grupo de 13 microsatélites recomendados por la FAO (2011) para estudios de caracterización genética en cerdos, que fueron usados en este trabajo, se presentan en los cuadros 2 y 3 respectivamente.

Cuadro 2. Composición de la mezcla de PCR.

Componente (concentración)	Vol.
albúmina de suero bovino (BSA) (1mg.mL ⁻¹)	0,5 µL
tampón (5X)	5 µL
MgCl ₂ (25mM)	2,5 µL
polimerasa TAQ (5U.µL ⁻¹)	0,2 µL
desoxinucleótidos trifosfatos (dNTP)(200 µM)	0,2 µL
ADN molde (10ng.µL ⁻¹)	5 µL
cebadores específicos (10 µM)	2 µL
agua purificada c.s.p	25 µL

Cuadro 3. Marcadores microsatélites utilizados en el análisis de paternidad en el cerdo Criollo venezolano.

Mrc ¹	Secuencia (5' → 3')	T ²
S0005	TCCTTCCCTCCTGGTAACTA GCACTTCCTGATTCTGGGTA	58
S0155	TGTTCTCTGTTTCTCCTCTGTTTG AAAGTGGAAAGAGTCAATGGCTAT	55
S0215	TAGGCTCAGACCCTGCTGCAT TGGGAGGCTGAAGGATTGGGT	55
S0218	GTGTAGGCTGGCGTTGT CCCTGAAACCTAAAGCAAAG	55
S0225	GCTAATGCCAGAGAAATGCAGA CAGGTGGAAAGAATGGAATGAA	55
S0227	GATCCATTATAATTTTAGCACAAAGT GCATGGTGTGATGCTATGTCAAGC	55
SW24	CTTTGGGTGGAGTGTGTGC ATCCAAATGCTGCAAGCG	58
SW240	TGGGTTGAAAGATTTCCCAA GGAGTCAGTACTTTGGCTTGA	58
SW632	ATCAGAACAGTGCGCCGT TTTGAAATGGGGTGTTC	58
SW857	AGAAATTAGTGCCTCAAATTGG AAACCATTAAGTCCCTAGCAAA	58
SW911	CTCAGTCTTTGGGACTGAACC CATCTGTGGAAAAAAGCC	55
SW936	TCTGGAGCTAGCATAAGTGCC GTGCAAGTACACATGCAGGG	58
SW951	TTTCACAACCTCTGGCACCAG GATCGTGCCCAATGGAC	58

¹Marcador. ²Temperatura de hibridación (°C). Fuente: FAO (2011).

La separación de los productos de la PCR se realizó mediante electroforesis vertical en geles de poliacrilamida (concentración del 6 %) y se reveló el resultado con solución de nitrato de plata (AgNO₃) según la metodología descrita por Badan (2003). La tipificación de los fragmentos de PCR se realizó con el apoyo de un transiluminador de luz blanca y el tamaño de los amplicones se calculó usando la metodología propuesta por Hames y Rickwood (1981), a partir de un marcador de 25 pb, con el apoyo de la aplicación Microsoft Excel®.

Se calcularon los parámetros; número total de alelos (NTA), número medio de alelos (NMA), índice de contenido polimórfico medio (PICM), heterocigosidad media esperada (HME) y heterocigosidad media observada (HMO), usando el complemento para Microsoft Excel "The Excel Microsatellite Toolkit" (Revidatti 2009). Los valores de la probabilidad de exclusión con ausencia de información de los dos progenitores (PE2), probabilidad de exclusión con ausencia de información de un progenitor (PE1), probabilidad de exclusión combinada para todos los loci, con ausencia de información de los dos progenitores (PEC2) y probabilidad de exclusión combinada para todos los loci, con ausencia de información de un progenitor (PEC1) se obtuvieron con apoyo del programa estadístico Cervus, versión 3.0 (Marshall *et al.* 1998, Kalinowski *et al.* 2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se identificaron 63 alelos (NTA) para las seis poblaciones de cerdos Criollos venezolanos y razas referenciales, para una media de 4,5 (NMA), esto se corresponde a una alta riqueza alélica, la cual es similar a los reportes previos de la literatura (Revidatti 2009, Landi *et al.* 2011, Costa *et al.* 2012, Montenegro 2012, Revidatti *et al.* 2014, Yu *et al.* 2015), aunque resultaron ser inferiores a los valores reportados por Pardo *et al.* (2015) y Cortés *et al.* (2016), resaltando que se usaron algunos microsatélites diferentes a los empleados en el presente estudio.

Los valores de HMO oscilaron entre 0,192 y 0,708; mientras que la HME varió entre 0,345 y 0,738 (Cuadro 4). Los valores máximos y mínimos para

Cuadro 4. HMO, HME y PICM por marcador en cerdos Criollos venezolanos.

Marcador	HMO	HME	PICM
S0005	0,708	0,647	0,568
S0155	0,561	0,673	0,595
S0215	0,192	0,345	0,274
S0218	0,549	0,577	0,525
S0225	0,543	0,731	0,669
S0227	0,296	0,380	0,326
SW24	0,665	0,705	0,635
SW240	0,690	0,656	0,585
SW632	0,573	0,639	0,558
SW857	0,599	0,582	0,517
SW911	0,515	0,738	0,678
SW936	0,516	0,667	0,588
SW951	0,577	0,500	0,430
Total¹	0,499	0,560	0,496

¹Valores medios considerando todos los marcadores.

la heterocigosidad son similares a los reportados por Fan *et al.* (2005), Vicente *et al.* (2008), Pardo *et al.* (2015), Revidatti *et al.* (2014), Yu *et al.* (2015), Cortés *et al.* (2016); destacando que, si se excluyen los loci S0215 y S0227, se presentó alta variabilidad genética en los cerdos Criollos venezolanos. Por otra parte, la diferencia entre los valores promedios para todos los loci es superior (0,061) al encontrado por los autores mencionados.

El valor de PICM para los microsatélites S0005, S0155, S0218, S0225, SW24, SW240, SW632, SW857, SW911 y SW936 fue superior a 0,5. De acuerdo a Pérez (2005) este resultado indica que son altamente informativos y demuestra su utilidad en el estudio de variabilidad y paternidad en cerdos; mientras que los marcadores S0215, S0227 y SW951 son medianamente informativos al ubicar sus PICM entre 0,25 y 0,5 (Martínez *et al.* 2005b).

La diferencia entre HMO y HME fue reportada por Galíndez *et al.* (2016) para las mismas poblaciones del presente estudio, lo que refleja, según los autores, una desviación del equilibrio Hardy-Weinberg; situación que a su vez evidencia la existencia de subestructura poblacional.

De manera general, otros autores han encontrado resultados similares para el PICM en diferentes especies (Li *et al.* 2004, Thuy *et al.* 2006, Vicente *et al.* 2008, Chang *et al.* 2009, Montenegro 2012, Pardo *et al.* 2014, 2015; Sharma *et al.* 2015, Yu *et al.* 2015, Ayagirwe *et al.* 2018, Pei *et al.* 2018).

La PE2 por marcador varió en un rango de 0,085 (S0215) a 0,383 (S0225), mientras que para la PE1 el intervalo de variación estuvo entre 0,164 y 0,563 para los mismos marcadores (Cuadro 5). Estos valores de PE se asemejan a los reportes de Yalta *et al.* (2014), Yu *et al.* (2015) y Pei *et al.* (2018) quienes evaluaron poblaciones de cerdos, alpacas y yaks.

Cuadro 5. PE2 y PE1 para la combinación de poblaciones de cerdos Criollos venezolanos y referenciales.

Locus	PE2	PE1
S0005	0,284	0,455
S0155	0,332	0,508
S0215	0,085	0,164
S0218	0,324	0,507
S0225	0,383	0,563
S0227	0,129	0,261
SW24	0,353	0,531
SW240	0,341	0,517
SW632	0,243	0,402
SW857	0,314	0,490
SW911	0,364	0,543
SW936	0,301	0,476
SW951	0,194	0,332
PEC¹	0,9874	0,9996
PEC²	0,9804	0,9990

¹PEC, considerando todos los loci en conjunto;

²PEC combinada descartando los loci S0215, S0227 y SW951.

Los valores de probabilidad de exclusión encontrados para los marcadores S0155, S0227, SW911, SW936 y SW951, son superiores a los reportados por Delgado *et al.* (2005), esta diferencia puede explicarse sobre la base de que se estudiaron poblaciones divergentes y, por tanto, la constitución genética de estas puede diferir.

Asimismo, los valores encontrados son inferiores a los reportados por Fan *et al.* (2005) y Vicente *et al.* (2008); en este caso debe mencionarse que los valores de probabilidad de exclusión por cada marcador aumentan con el incremento del número de alelos de estos, lo que conduce a pensar que en los trabajos citados probablemente existió una mayor riqueza alélica.

Se detectaron tres marcadores con baja probabilidad de exclusión (menor a 0,25); S0215, S0227 y SW951, de acuerdo al criterio establecido por Delgado *et al.* (2005) se consideran como poco informativos. Estos resultados concuerdan con los autores citados, estos microsatélites se corresponden con la menor heterocigosidad media e inferiores índices de contenido polimórfico medio (Cuadro 5), lo que confirma los hallazgos y teorías expresadas con anterioridad sobre la poca información que expresan los marcadores mencionados en estas poblaciones para el estudio de la diversidad genética.

La PEC incluyendo todos los loci para ambos casos resultó en valores superiores a 0,98 (Cuadro 5), resaltando que el poder de discriminación de un individuo con respecto a la población mediante la probabilidad de exclusión total es cercana al 100 % (99,9 %) en ausencia de información de uno de los progenitores (PEC1). Los resultados concuerdan con los reportes de Vicente *et al.* (2008) y Delgado *et al.* (2005) quienes informan valores de probabilidad de exclusión similares al presente estudio.

Vale la pena mencionar que, si se descartan los microsatélites S0215, S0227 y SW951, la PEC se mantiene en 99,9 % para un panel de 10 microsatélites (Cuadro 5), por lo tanto, la no inclusión de estos marcadores implica ahorro en tiempo y dinero sin afectar la precisión del análisis.

De acuerdo a Aranguren-Méndez (2002), los valores altos de la PE implican que prácticamente existe una probabilidad de 100 % de detectar una falsa paternidad con el panel de marcadores propuesto. Asimismo, es válido aseverar que la prueba propuesta constituye una herramienta muy útil para controlar la genealogía en cerdos Criollos venezolanos a través del diseño de los planes de apareamiento, sobre todo porque es

conocido que en los sistemas de explotación de estos cerdos los apareamientos no son controlados y menos aún las relaciones de parentesco que puedan ocurrir entre los individuos de las poblaciones consideradas.

Por tanto, el análisis de paternidad para minimizar o eliminar la consanguinidad representa un paso fundamental a ser considerado en los planes de conservación y recuperación de las poblaciones de cerdos Criollos venezolanos. Asimismo, la premisa de poder controlar la genealogía, usando esta técnica, en futuros planes de mejora genética luce como un objetivo fundamental a mediano plazo (Aranguren-Méndez 2002; Martínez *et al.* 2005a, Yu *et al.* 2015, Pei *et al.* 2018).

En referencia a los valores de la PEC discriminados por grupo experimental, los resultados muestran valores altos dentro de las poblaciones de cerdos Criollos venezolanos y las razas comerciales (Cuadro 6). El microsatélite que presentó menor valor para PE1 fue variable entre poblaciones, en Masaguaral, El Socorro, y Arismendi correspondió al marcador S0005, mientras que en Guayabal, Capanaparo, Cunaviche, Landrace y Large White los marcadores identificados fueron SW857, SW24, SW240, SW936 y S0218, respectivamente.

Estos marcadores fueron poco informativos para las poblaciones mencionadas, por lo tanto, la discusión sobre su poca o ninguna utilidad es válida, puesto que es muy probable que se puedan descartar en el análisis de cada población particular sin que ocurran variaciones significativas en el valor de la probabilidad de exclusión combinada.

Una distribución similar se observa con los marcadores que presentan los valores más elevados de probabilidad de exclusión dentro de cada población, ya que estos no son los mismos entre un grupo y otro (Cuadro 6).

Finalmente, la probabilidad de exclusión supera el valor de 99 % (entre 99,3% y 99,9 %) para todas las poblaciones, por tanto, el análisis posee alta precisión, en concordancia a lo expresado por Aranguren-Méndez (2002), es improbable que no se detecte una paternidad errónea con este tipo de análisis en las poblaciones y condiciones consideradas.

Cuadro 6. PE1 para cada población de cerdos Criollos venezolanos y razas comerciales.

Marcador	Masa ²	EISO ³	Aris ⁴	Guay ⁵	Capa ⁶	Cuna ⁷	Land ⁸	LaWh ⁹
S0005	0,321	0,292	0,292	0,476	0,367	0,323	0,345	0,393
S0155	0,398	0,439	0,471	0,370	0,295	0,478	0,453	0,379
S0218	0,612	0,471	0,409	0,311	0,552	0,338	0,331	0,106
S0225	0,602	0,476	0,479	0,343	0,533	0,458	0,618	0,498
SW24	0,449	0,478	0,563	0,342	0,269	0,338	0,424	0,517
SW240	0,362	0,342	0,414	0,541	0,454	0,245	0,412	0,410
SW632	0,481	0,338	0,433	0,394	0,471	0,399	0,403	0,266
SW857	0,334	0,424	0,409	0,132	0,444	0,393	0,338	0,157
SW911	0,532	0,459	0,515	0,459	0,367	0,479	0,466	0,466
SW936	0,496	0,365	0,326	0,326	0,295	0,492	0,185	0,348
PEC¹	0,999	0,999	0,998	0,995	0,995	0,997	0,997	0,993

¹Probabilidad de exclusión combinada, descartando los loci S0215, S0227 y SW951. ²Masaguaral. ³El Socorro.

⁴Arisemendi. ⁵Guayabal. ⁶Capanaparo. ⁷Cunaviche. ⁸Landrace. ⁹Large White.

Tales precisiones han sido reportadas en asnos, cerdos, vacunos, ovinos, aves y camélidos usando distintos paneles de microsatélites (Aranguren-Méndez 2002, Rodríguez *et al.* 2004, Fan *et al.* 2005, Martínez *et al.* 2005a, Delgado *et al.* 2005, Arellano *et al.* 2007, Arellano 2008, Vicente *et al.* 2008, Calvo *et al.* 2009, Delgado *et al.* 2006, Tobaruela 2011, Yu *et al.* 2015, Jan y Fumagalli 2016, Pei *et al.* 2018).

CONCLUSIONES

Se detectó alta riqueza alélica en las poblaciones estudiadas, la cual es corroborada por la alta variabilidad expresada por los valores de heterocigosidad tanto observada como esperada.

Por otra parte, de los 13 microsatélites utilizados se comprobó que 10 de estos tienen la utilidad y precisión necesaria para realizar pruebas de paternidad y registros genealógicos en los cerdos Criollos venezolanos, utilizando la herramienta de la probabilidad de exclusión.

LITERATURA CITADA

Aranguren-Méndez, J; Román-Bravo, R; Isea, W; Villasmil, Y; Jordana, J. 2005. Los microsatélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación:

una revisión. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal 13(1):30-42.

Aranguren-Méndez, J. 2002. Caracterización y relaciones filogenéticas de cinco razas asnales españolas en peligro de extinción mediante la utilización de marcadores microsatélites: su importancia en los programas de conservación. Tesis Doctoral. Barcelona, España. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona. 213 p.

Arellano, W. 2008. Asignación de paternidad en sistemas de producción de bovinos de carne mediante el uso de marcadores microsatélites. Tesis Maestría. Michoacán, México. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 49 p.

Arellano, W; Sifuentes, A; Parra, G; Garcidueñas, R. 2007. Evaluación en ganado Braford de los marcadores microsatélites sugeridos por FAO/ISAG para pruebas de paternidad (en línea). *In* Congreso Latinoamericano de Producción Animal (20, Cusco, Perú). Memoria, Cusco, Perú, ALPA. Consultado 15 may. 2018. Disponible en <http://bit.ly/36FrQrX>

Ayagirwe, RBB; Meutchieye, F; Manjeli, Y; Maass, BL. 2018. Production systems, phenotypic and genetic diversity, and performance of cavy reared in sub-Saharan Africa: a

- review (en línea). *Livestock Research for Rural Development* 30(6). Consultado 04 may. 2018. Disponible en <http://bit.ly/2PMO84o>
- Badan, A. 2003. Ganho com seleção e diversidades genéticas: medidas para monitorar o melhoramento populacional de arroz. Tesis Doctorado. Campiñas, Brasil; Universidade Estadual de Campiñas. 100 p.
- Behl, R; Behl, J; Tantia, M; Nahardeka, N; Das, G; Sajeev, K; Vijh, R. 2017. Evaluation of 24 microsatellite markers for parentage exclusion in three indigenous pig types of India. *The Indian Journal of Animal Sciences* 87(4):443-446.
- Calvo, SJ; Martínez, E; Tirado, JF; Corrales, JD; Montoya, AE; Burgos, WO; Cerón-Muñoz, MF; Moreno, M. 2009. Caracterización genética de las razas criollas BON y Rimosinuano (en línea). *Livestock Research for Rural Development* 21(4). Consultado 22 feb. 2015. Disponible en <http://bit.ly/2S0wqNs>
- Chang, WH; Chu, HP; Jiang, YN; Li, SH; Wang, Y; Chen, CH; Chen, KJ; Lin, CY; Ju, YT. 2009. Genetic variation and phylogenetic of Lanyu and exotic pig breeds in Taiwan analyzed by nineteen microsatellite markers. *Journal of Animal Science* 87(1):1-8.
- Cortés, O; Martínez, AM; Cañon, J; Sevane, N; Gama, LT; Ginja, C; Landi, V; Zaragoza, P; Carolino, N; Vicente, A; Sponenberg, P; Delgado, JV for the BioPig Consortium. 2016. Conservation priorities of Iberoamerican pig breeds and their ancestors based on microsatellite information. *Heredity* 117:14-24.
- Costa, V; Pérez-González, J; Santos, P; Fernández-Llario, P; Carranza, J; Zsolnai, A; Anton, I; Buzgó, J; Varga, G; Monteiro, N; Beja-Pereira, A. 2012. Microsatellite markers for identification and parentage analysis in the European wild boar (*Sus scrofa*). *BMC Research Notes* 5:479.
- Delgado, R; Torrentó, N; Trilla, N; Collell, E; Ballester, J; Tibau, J. 2005. Aplicación de microsatélites en la identificación genética de reproductores y en el estudio de parentesco en poblaciones porcinas de selección de las razas Pietrain y Duroc (en línea). *In Jornadas sobre producción animal* (11, Zaragoza, España). Memoria, Zaragoza, España, AIDA. Consultado 25 oct. 2009. Disponible en <http://bit.ly/35wWt2M>
- Delgado G, R; Trilla, N; Torrentó, N; Tibau, J. 2006. La identificación genética y análisis de parentesco de cerdos reproductores de raza porcina selecta (en línea). 3tres3.com Comunidad Profesional Porcina. Consultado 10 oct. 2010. Disponible en <http://bit.ly/34sc7v1>
- Fan, B; Chen, YZ; Moran, C; Zhao, SH; Liu, B; Yu, M; Zhu, MJ; Xiong, TA; Li, K. 2005. Individual-breed assignment analysis in swine populations by using microsatellite markers. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 18(11):1529-1534.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2011. Molecular genetic characterization of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. Rome, Italy. No. 9.87 p.
- Galíndez, R; Ramis, C; Ángulo, L. 2011. Exploración inicial de la diversidad genética del cerdo Criollo venezolano usando RAPD. *Revista de la Facultad de Agronomía (UCV)* 37(2):55-63.
- Galíndez, R; Ramis, C; Martínez, G; Ángulo, L; Bedoya, A; de Farías, Y. 2016. Variabilidad genética de seis poblaciones del cerdo Criollo venezolano usando marcadores microsatélites. *Revista de la Facultad de Agronomía (UCV)* 42(2):91-100.
- Hames, BD; Rickwood, D. 1981. Gel electrophoresis of proteins: a practical approach. IRL Press, Oxford and Washington D.C. USA. p.1-9.
- Jan, C; Fumagalli, L. 2016. Polymorphic DNA microsatellite markers for forensic individual identification and parentage analyses of seven threatened species of parrots (family Psittacidae) (en línea) *PeerJ* 4:e2416. Consultado 04 feb. 2018. Disponible en <https://peerj.com/articles/2416/>
- Kalinowski, S; Taper, M; Marshall, T. 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success

- in paternity assignment. *Molecular Ecology* 16:1099-1006.
- Landi, V; Negro, JJ; Vega-Pla, JL; Gortázar, C; García-Aznar N, JM; Delgado B, JV; Martínez M, A. 2011. Caracterización genética del Jabalí de la Estación Biológica de Doñana. *Archivos de Zootecnia* 60(231):373-376.
- Li, SJ; Yang, SL; Zhao, SH; Fan, B; Yu, M; Wang, HS; Li, MH; Liu, B; Xiong, TA; Li, K. 2004. Genetic diversity analyses of 10 indigenous Chinese pig populations based on 20 microsatellites. *Journal of Animal Science* 82(2):368-374.
- Marshall, TC; Slate, J; Kruuk, LE; Pemberton, JM. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology* 7(5):639-655.
- Martínez, AM; Calderón, J; Camacho, E; Rico, C; Vega-Pla, JL; Delgado, JV. 2005a. Caracterización genética de la raza bovina Mostrenca con microsatélites. *Archivos de Zootecnia* 54(206-207):357-361.
- Martínez, AM; Pérez-Pineda, E; Vega-Pla, JL; Barba, C; Velázquez, FJ; Delgado, JV. 2005b. Caracterización genética del cerdo Criollo Cubano con microsatélites. *Archivos de Zootecnia* 54:(206-207):369-375.
- Montenegro, M. 2012. Caracterización genética de los cerdos Pampa Rocha de Uruguay (en línea). Tesis M.Sc. Montevideo, Uruguay, Universidad de la República. 118 p. Consultado 18 jul. 2018. Disponible en [http:// bit.ly/34yeyMH](http://bit.ly/34yeyMH)
- Pardo, E; Cavadía, T; Meléndez, I. 2014. Microsatellite characterization of the Momil, Cordoba (Colombia) domestic pig. *Archivos de Zootecnia* 63(241):215-218.
- Pardo, E; Cavadía, T; Meléndez, I. 2015. Genetic diversity of domestic pigs in Tierralta (Colombia) using microsatellites. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 28(3):272-278.
- Pei, J; Bao, P; Chu, M; Liang, C; Ding, X; Wang, H; Wu, X; Guo, X; Yan, P. 2018. Evaluation of 17 microsatellite markers for parentage testing and individual identification of domestic yak (*Bos grunniens*). (en línea). *PeerJ* 6:e5946. Consultado 04 may. 2018. Disponible en <https://peerj.com/articles/5946/>
- Pérez, E. 2005. Caracterización genética del cerdo Criollo cubano utilizando marcadores moleculares. In Congreso Centroamericano y del Caribe de Porcicultura (7, 2005, La Habana, Cuba). Taller Internacional Sobre el Cerdo Criollo de Origen Ibérico (2, 2005, La Habana, Cuba). p. 569-575
- Revidatti, M. 2009. Caracterización de cerdos Criollos del nordeste argentino. Tesis Doctoral. Córdoba, España. Universidad de Córdoba. 259 p.
- Revidatti, MA; Delgado-Bermejo, JV; Landi-Periati, V; Ginja, C; Álvarez, LA; Veja-Pla, JL; Martínez, AM; Biopig Consortium. 2014. Genetic characterization of local Criollo pig breeds from the Americas using microsatellite markers. *Journal of Animal Science* 92(11):4823-4832.
- Riojas, VM; Gómez, JC; Salinas, JA; Montes De Oca, R; Wong, A. 2006. Confiabilidad del análisis de ADN en pruebas de paternidad para bovinos Brahman y Brangus en México. *Ciencia UANL* IX(1):41-50.
- Rodríguez, J; Wheeler, JC; Dodd, CS; Bruford, MW; Rosadio, R. 2004. Determinación de parentesco en alpacas (*Vicugna pacos*) por medio del análisis de ADN microsatélite. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 15(2):113-119.
- Sharma, R; Kishore, A; Mukesh, M; Ahlawat, S; Maitra, A; Kumar, A; Sudan, M. 2015. Genetic diversity and relationship of Indian cattle inferred from microsatellite and mitochondrial DNA markers (en línea). 2015. *BMC Genetics* 16:73. DOI 10.1186/s12863-015-0221-0. Consultado 04 abril 2018. Disponible en [http:// bit.ly/35vWXGp](http://bit.ly/35vWXGp)
- Sifuentes, AM; Parra, GM; de la Rosa XF; Sánchez, A; Serrano, F; Rosales, J. 2006. Importancia de las pruebas de paternidad basadas en microsatélites para la evaluación genética de ganado de carne en empadre múltiple. *Técnica Pecuaria en México* 44(3):389-398.

- Thuy, NTD; Melchinger-Wild, E; Kuss, AW; Cuong, NV; Bartenschlager, H; Geldermann, H. 2006. Comparison of Vietnamese and European pig breeds using microsatellites. *Journal of Animal Science* 84:2601-2608.
- Tobaruela, M. 2011. Avances del programa de selección/conservación de la oveja roja Mallorquina. Tesis M.Sc. Córdoba, España. Universidad de Córdoba. 39 p.
- Vicente, AA; Carolino, MI; Sousa, MC; Ginja, C; Silva, FS; Martínez, AM; Vega-Pla, JL; Carolino, N; Gama, LT. 2008. Genetic diversity in native and commercial breeds of pigs in Portugal assessed by microsatellites. *Journal of Animal Science* 86(10):2496-2507.
- Yalta, C; Sotil, G; Veli, E. 2014. Variabilidad genética y detección de error en filiación utilizando microsatélites en dos rebaños de alpacas Huacaya (*Vicugna pacos*). *Salud y Tecnología Veterinaria*: 2(2):134 -145.
- Yu, GC; Tang, QZ; Long, KR; Che, TD; Li, MZ; Shuai, SR. 2015. Effectiveness of microsatellite and single nucleotide polymorphism markers for parentage analysis in European domestic pigs. *Genetics and Molecular Research* 14(1):1362-1370

Estimación de la edad y crecimiento de la cachama negra mediante la inferencia multimodal, en la región media del Orinoco en Venezuela

Ángel González^{1*}, Jeremy Mendoza², Freddy Arocha², Arístide Márquez³

¹Instituto Limnológico, Universidad de Oriente (UDO) Caicara del Orinoco, Bolívar, Venezuela. ²Instituto Oceanográfico de Venezuela (IOV), Biología Pesquera, Cumaná, Sucre, Venezuela. ³Instituto Oceanográfico de Venezuela (IOV), Oceanografía Química, Cumaná, Sucre, Venezuela. *Correo Electrónico: angelgonzalez78@hotmail.com

RESUMEN

La contribución de la cachama (*Colossoma macropomum*) en la composición por especie de los desembarcos de la pesca artesanal en la región del Orinoco medio, ha disminuido, por lo que se requirió la valoración del rendimiento sostenible de la especie y la generación de información para establecer medidas de conservación. Con base en lo anterior se realizaron estudios de evaluación de la población explotada, para estimar la edad y los parámetros de crecimiento de la especie en la región media Orinoco. La edad fue determinada a partir de los anillos de crecimiento de los otolitos y la longitud-edad mediante el procedimiento del retro-cálculo. Las características del crecimiento se determinaron por inferencia de múltiples modelos como von Bertalanffy, Logístico, Gompertz y Schnute-Richards. Luego, se seleccionó el de mejor ajuste utilizando el criterio de la información de Akaike (AIC). La edad máxima fue de cinco años en peces de hasta 63 cm de longitud total, mientras que los parámetros de crecimiento estimados a partir de un modelo promedio entre los modelos de von Bertalanffy y Schnute-Richards fueron $L_{\infty} = 74,3$ cm de longitud total, $K = 0,309$ año⁻¹ y $t_0 = -0,358$ años; con un crecimiento relativamente rápido.

Palabras clave: recursos pesqueros, evaluación de poblaciones ícticas, peces de agua dulce, *Colossoma macropomum*, dinámica de poblaciones, crecimiento

Age and growth estimation of the black cachama through multimodal inference in the middle Orinoco region in Venezuela

ABSTRACT

The contribution of the cachama (*Colossoma macropomum*) in the species composition of artisanal fishing landings in the middle Orinoco region has decreased, so the assessment of the sustainable yield of the species and the generation of information for establish conservation measures, was required. Based on the above, evaluation studies of the exploited population were carried out to estimate the age and growth parameters of the species in the Orinoco medial region. Age was determined from the growth rings of the otoliths and the length-age by the retro-calculation procedure. The growth characteristics were determined by inference from multiple models such as von Bertalanffy, Logistico, Gompertz and Schnute-Richards. Then, the best fit was selected using the Akaike information criterion (AIC). The maximum age was five years in fish up to 63 cm in total length, while the growth parameters estimated from an average model between von Bertalanffy and Schnute-Richards models were $L_{\infty} = 74.3$ cm in length total, $K = 0.309$ year⁻¹ and $t_0 = -0.358$ years; with relatively rapid growth.

Key words: fishery resources, stock assessment, freshwater fishes, *Colossoma macropomum*, population dynamics, growth.

INTRODUCCIÓN

La cachama, pez de la Familia Characidae (*Colossoma macropomum*), se encuentra entre las especies de mayor importancia comercial y de cultivo en Venezuela. Está ampliamente distribuida en el río Orinoco, desde Puerto Ayacucho hasta el bajo delta (Novoa y Ramos 1982) y en la sub-cuenca del río Apure, desde el pie de monte andino hasta el bajo llano incluyendo los ríos Apure, Portuguesa, Guanare y Caparo, entre otros (Novoa 2002). En la fase adulta, habita en el canal principal del Orinoco y en las lagunas de inundación, donde se alimenta de frutos y semillas de los bosques inundados; mientras que en el estadio juvenil se encuentra frecuentemente en las lagunas de inundación, donde se alimenta de zooplankton (Novoa y Ramos 1982, Araújo-Lima y Goulding 1997).

Durante los años ochenta fue una especie relativamente importante en la composición de la captura de la pesca artesanal en el Orinoco medio, conjuntamente a *Pseudoplatystoma* spp. y *Plagioscion squamosissimus* (Novoa et al. 1984, González et al. 2016). Luego, se describe un incremento importante en su producción en el intervalo 2000-2004 (FAO 2005), para posteriormente disminuir. En relación a lo anterior, se reportó recientemente que los porcentajes de producción son relativamente bajos (INSOPESCA 2017).

Esta disminución de la producción, aunado al tamaño relativamente pequeño de los peces desembarcados, expuso la necesidad de renovar los estudios de evaluación de la población explotada y actualizar la información de los aspectos biológicos de la especie, los cuales no existían para esta población en el río Orinoco.

Entre las variables importantes a estudiar como población explotada, la edad y el crecimiento de la especie son características a tener en cuenta, ya que constituyen una referencia en cuanto a las respuestas de la especie, a influencias ambientales y humanas como la pesca (Mercier et al. 2011, Cruz-Vázquez et al. 2012, Gherard et al. 2013); además de ser una información básica en la aplicación de modelos analíticos de evaluación (González et al. 2015).

La estimación de los parámetros como crecimiento y tamaño medio de los peces desembarcados, es importante; el primero para calcular con mayor precisión el efecto del esfuerzo de pesca, mientras que el segundo, para valorar el rendimiento sostenible de la especie; lo anterior, con el fin de generar información que permita establecer medidas de conservación y que sustenten algunas ya implementadas como la Resolución 002 de INSOPESCA (2002).

En el estudio del crecimiento de los peces, el modelo de von Bertalanffy ha sido extensamente utilizado; no obstante, su uso se ha establecido de manera a priori, sin considerar posibles incertidumbres y asumiendo de manera implícita que constituye el modelo ideal. Algunos investigadores han considerado que lo anterior es poco realista y no justificado desde el punto de vista matemático (Buckland et al. 1997, Burnham y Anderson 2002). Lo anterior puede conducir a errores en las estrategias recomendadas para el manejo de la pesquería (Costa et al. 2013, Aragón-Noriega et al. 2015), ya que ignorar la incertidumbre asociada a la selección del modelo, a menudo sobreestima la precisión y promueve que las predicciones sean menos exactas de lo esperado (Burnham y Anderson 2002).

En alcance a lo expresado, se ha evidenciado la necesidad de utilizar otras metodologías, entre ellas la inferencia de modelos múltiples de crecimiento y la teoría de la información, que permita seleccionar el modelo que muestre una mayor plausibilidad biológica y estadística con relación a los datos (Burnham y Anderson 2002). Este enfoque ha sido considerado recientemente como una mejor alternativa en comparación con el uso a priori del modelo de von Bertalanffy (Katsanevakis y Maravelias 2008, Zhu et al. 2009, Baer et al. 2011, Mercier et al. 2011); luego, la orientación para seleccionar el modelo de mejor ajuste, sería la teoría de la información según el criterio de Akaike (Katsanevakis 2006).

Entre los modelos alternativos al de von Bertalanffy, se han utilizado los modelos de Gompertz, Logístico de Ricker y el generalizado de Schnute-Richards (Penna et al. 2005, Costa et al. 2013, Arzola-Sotelo, 2013, Aragón-Noriega et al. 2015). A

partir de estos modelos es posible seleccionar el de mejor ajuste basándose en la forma de la curva anticipada, las suposiciones biológicas y el ajuste de los datos (Aragón-Noriega *et al.* 2015).

Con base en las consideraciones anteriores, el objetivo de esta investigación fue estimar la edad y los parámetros de crecimiento de la cachama (*Colossoma macropomum*) en la región media del Orinoco, mediante la inferencia multimodal del crecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Con frecuencia mensual, se tomaron muestras entre los meses de enero y diciembre del 2011. Los sitios de muestreo fueron las lagunas de Castellero y la Teja de la región del Orinoco medio, así como el canal principal entre la desembocadura del río Apure y Punta Brava en la región de Caicara del Orinoco, estado Bolívar (Figura 1). Se utilizaron redes de enmalle con abertura de malla entre 10 y 16 cm.

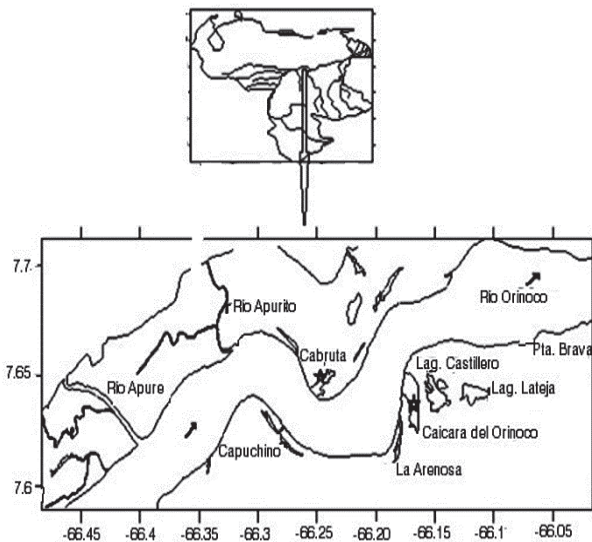


Figura 1. Área de muestreo de *Colossoma macropomum* en la región del Orinoco medio en Venezuela

La edad se determinó utilizando el método directo del conteo y medición de los anillos de crecimiento en los otolitos (sagitas) de peces previamente medidos en su longitud

total (cm). Para esto, los otolitos fueron tratados con agua caliente por cinco minutos para eliminar la mayor cantidad de tejido muscular y adiposo. Luego, el otolito izquierdo fue pulido en dirección antero-posterior por la cara exterior primero con una lija gruesa y luego con una lija de agua para exponer el núcleo y los anillos de crecimiento. Posteriormente fueron sometidos a la técnica del quemado en estufa a 100°C por 24 horas para resaltar los anillos y realizar las mediciones (González *et al.* 2005).

La observación y medida de los anillos se efectuó utilizando una lupa estereoscópica trinocular Motic SMZ 140/143 adaptada a una cámara micro-fotográfica Moticam 2300, conectada a un monitor. La comparación de los radios de los anillos se realizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis para las medianas, con ayuda del programa estadístico Statgraphics 4.1.

La periodicidad de formación de los anillos se estableció mediante el análisis mensual del promedio del incremento marginal (*IM*) de los otolitos, estimado según la ecuación:

$$IM = \frac{(S_c - r_i)}{(r_i - r_{i-1})}$$

donde:

S_c = radio del corte del otolito

r_i = radio del último anillo

r_{i-1} = radio del penúltimo anillo.

La época del año de formación de los anillos, fue establecida en aquella en la que se evidenciara la reducción del promedio del *IM*, estimado globalmente para los meses de sequía y de lluvia. La comparación estacional del *IM* se realizó de igual forma mediante la prueba de Kruskal-Wallis para las medianas, con ayuda del programa estadístico Statgraphics 4.1.

Para el estudio del crecimiento se utilizaron los datos de longitud-edad, obtenidos mediante el método del retro-cálculo de la longitud a la formación de cada anillo, usando la ecuación de Fraser-Lee:

$$L_t = a + (L_c - a) \times \left(\frac{S_t}{S_c} \right)$$

(González *et al.* 2010)

donde:

L_t = longitud retro-calculada a cada anillo.

a = intercepción de la regresión entre el radio del corte del otolito y la longitud del pez.

L_c = longitud del pez.

S_i = radio de los anillos.

S_c = radio del corte del otolito.

La intercepción " a " se determinó con el modelo de regresión de mejor ajuste a la relación entre S_c y L_c , según el coeficiente de correlación R estimado con ayuda del Statgraphics 4.1.

En la estimación del crecimiento se aplicaron los modelos de von Bertalanffy, el modelo Logístico de Ricker, el modelo de Gompertz y el modelo generalizado de Schnute - Richards (Costa *et al.* 2013, Aragón-Noriega *et al.* 2015), con la finalidad de determinar el de mejor ajuste de los datos y disminuir incertidumbres.

Estos modelos estuvieron representados por las siguientes ecuaciones:

$$L_{(t)} = L_{\infty} \times (1 - e^{-K(t-t_0)})$$

Modelo de von Bertalanffy.

$$L_{(t)} = L_{\infty} \times (1 + e^{-K_2(t-t_1)})^{-1}$$

Modelo Logístico de Ricker.

$$L_{(t)} = L_{\infty} \times \exp(-e^{-K_3(t-t_2)})$$

Modelo de Gompertz.

$$L_{(t)} = L_{\infty} \times (1 + \alpha e^{-Kt})^{\frac{1}{b}}$$

Modelo de Schnute-Richards.

donde:

$L_{(t)}$ = longitud teórica

L_{∞} = longitud asintótica

t = edad

K = rapidez con que se alcanza L_{∞}

K_2 = tasa de crecimiento relativo

K_3 = tasa de disminución exponencial del crecimiento relativo con la edad

t_0 = edad teórica del pez a la longitud cero

t_1 y t_2 = puntos de inflexión de la curva sigmoidea

$$t_2 = \frac{\ln X}{K_3}$$

X = tasa de crecimiento relativa inicial teórica en edad cero

La ecuación de Schnute - Richards es un modelo generalizado, donde los parámetros de crecimiento corresponden a los de von Bertalanffy, Logístico y Gompertz, cuando el parámetro " b " se hace igual a 1, -1 y $\approx 0,01$ respectivamente. Este modelo no estima t_0 directamente (Costa *et al.* 2013).

La clasificación y comparación de los modelos propuestos se efectuó utilizando el criterio de información de Akaike (AIC), según las siguientes ecuaciones (Costa *et al.* 2013, Aragón-Noriega *et al.* 2015):

$$AIC = n \times (\log \sigma^2) + 2k + \frac{2k \times (k+1)}{n-k-1}, \quad \sigma^2 = \frac{RSS}{n}$$

$$\Delta AICc = AICc - AICmin$$

Donde RSS fue la suma de cuadrados residual de cada modelo, " n " el tamaño de la muestra, " k " el número de parámetros estimados en cada modelo (incluyendo a σ^2), $AICc$ fue el AIC de cada modelo, $AICmin$ fue el valor más pequeño del AIC y $\Delta AICc$ el grado de separación de cada $AICc$ con relación al $AICmin$.

$\Delta AICc$ comparó la separación relativa de cada modelo con relación al modelo más parsimonioso o moderadamente más preciso, el cual correspondió al que produjo el menor valor del AIC ($AICmin$).

Los criterios utilizados para ponderar el ajuste de los modelos fueron los siguientes:

- $\Delta AICc > 10$ se consideró como un modelo no ajustado debidamente a los datos y fue descartado.
- Para $4 \leq \Delta AICc \leq 7$, se consideró como un modelo ajustado moderadamente a los datos.
- Cuando $\Delta AICc < 2$, se consideró como un modelo fuertemente respaldado por los datos (Arzola-Sotelo 2013) e indicó una correspondencia con el modelo más preciso o de menor AIC (Burnham y Anderson 2002).

Para confirmar la selección del mejor modelo se calculó la plausibilidad de cada uno mediante la ponderación de Akaike (W_i), de acuerdo a lo

sugerido por Burnham y Anderson (2002), con la siguiente ecuación:

$$Wi = \frac{e^{(-\frac{1}{2} \times \Delta i)}}{\sum e^{(-\frac{1}{2} \times \Delta i)}}$$

donde Δi fue el $\Delta A/Cc$ de cada modelo.

Para corroborar el modelo más plausible, se utilizaron los siguientes criterios:

- Cuando $Wi > 0,9$ se consideró como el modelo de mejor ajuste.
- Cuando $Wi < 0,9$ se conjeturó que ninguno fue superior a otro y se determinó en este caso, un modelo promedio (Costa *et al.* 2013).

En el modelo promedio, la longitud asintótica ($L_{\infty prom}$) se calculó utilizando la ecuación:

$$L_{\infty prom} = \sum Wi \times L_{\infty i}$$

El error estándar se estimó mediante la ecuación:

$$E.SL_{\infty prom} = \sum Wi \times (VarL_{\infty i} + (L_{\infty i} - L_{\infty prom})^2)^{\frac{1}{2}}$$

Donde $VarL_{\infty i}$ fue la varianza del L_{∞} estimada del ajuste de los datos longitud-edad con cada modelo "i" (Costa *et al.* 2013). De la misma manera se hizo para determinar el promedio de "K" y " t_0 ", dependiendo de los modelos promediados.

La longevidad promedio se determinó usando la ecuación:

$$A_{0,95} = t_0 + 2,996/K$$

La cual estimó el tiempo promedio requerido para que la especie alcanzara el 95 % del L_{∞} (Penha *et al.* 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En total se observaron hasta cinco anillos de crecimiento que representaron grupos de edad en peces de longitudes comprendidas entre 22 y 63 cm de longitud total; con diferencias significativas en las medianas de los radios ($P < 0,05$) y una relación también significativa entre dichos radios y la longitud de los peces ($P < 0,05$).

Los anillos se observaron como bandas diferencialmente oscurecidas, posiblemente por formarse durante la época del año cuando disminuyó la

deposición de calcio por incremento del crecimiento (Morales-Nin 1992); haciéndose relativamente fácil de observar y de medir, excepto el primer anillo que frecuentemente se oscureció en menor intensidad.

Los anillos se formaron durante los meses de sequía, cuando se redujo significativamente ($P < 0,05$) el promedio del incremento marginal ($IM = 0,03 \pm 0,01$ cm) en comparación con el de los meses de lluvia ($IM = 0,14 \pm 0,05$ cm); relacionándose aparentemente la formación de estos anillos con variables medioambientales como el ciclo hidrológico del Orinoco (Loubens y Panfili 1997) y el aumento de la temperatura durante los meses de sequía (Booth *et al.* 1995, Panfili 1992), además de la canalización de la energía para la reproducción que ocurre durante los primeros meses de lluvia (Duponchelle y Panfili 1998).

En el Amazonas central, los anillos de crecimiento en los otolitos y escamas de *C. macropomum* se forman anualmente durante la época de aguas bajas y temperaturas relativamente altas (Villacorta-Correa 1997); mientras que en el Amazonas boliviano, la hidrología constituye un factor importante en la formación de los depósitos de calcio en los otolitos (Panfili 1992, Loubens y Panfili 1997).

La relación entre el radio de los anillos y la longitud de los peces se ajustó positivamente a diferentes modelos de regresión según el coeficiente R ; no obstante, el modelo lineal utilizado para el procedimiento del retro-cálculo fue el más simple debido a que fue el que mejor se adaptó, al permitir la modelización del crecimiento de jóvenes a partir de individuos viejos tal como fue reportado por Campana (1990).

Este modelo lineal estuvo representado por la ecuación:

$$L_c = -0,0346241 + 0,0154267S_c \quad (R = 0,89)$$

donde L_c fue la longitud total del pez (cm) y S_c el radio del otolito (cm) y "a" se representó con el valor -0,0346241.

La gran mayoría de los peces capturados (65 %) presentaron entre uno y dos anillos de crecimiento (uno y dos años de edad), con una longitud promedio observada de $28,5 \pm 3,5$ cm de longitud total y una

longitud promedio retro-calculada de $26,4 \pm 4,1$ cm de longitud total para los peces de un año de edad. Los peces de dos años de edad presentaron una longitud promedio observada de $39,5 \pm 3,6$ cm de longitud total, y una longitud promedio retro-calculada de $38,5 \pm 3,0$ cm de longitud total (Cuadro 1).

En los lagos de la confluencia de los ríos Solimões y Japurá del estado de Amazonas (Brasil), la edad máxima de *C. macropomum* es de seis años de edad. Se observan peces con longitudes comprendidas entre 26,75 cm y 60,15 cm de longitud a la forka, cuya mayoría alcanzan hasta cinco años de edad (Costa *et al.* 2013);

las medidas anteriores son similares a las longitudes observadas para los peces de entre uno y cinco años de edad de esta investigación (Cuadro 1), aun considerando la diferencia en el tipo de longitud utilizado.

En las cuencas del Iténez, Mamoré y Beni del Amazonas boliviano, se han reportado ocho clases de edades para *C. macropomum*; con una longitud estándar de 36 cm en peces de un año de edad (Maldonado 2004), mayor que la estimada en el presente trabajo, aun considerando la diferencia en el tipo de longitud utilizado.

Cuadro 1. Promedio de las longitudes observadas y retro-calculadas por grupo de edad de *Colossoma macropomum* en del Orinoco, sector Caicara-Cabruta

Edad	N	L obs	LR1	LR2	LR3	LR4	LR5
I	28	28,5±3,5	26,4±4,1				
II	29	39,5±3,6	20,9	38,5±3,0			
III	17	46,3±0,5	24,0	31,0	45,9±0,6		
IV	7	55,6±3,9	26,4	33,6	39,8	51,3±1,5	
V	7	62,3±1,0	24,4	27,6	39,4	45,5	61,9±1,5

N = número de peces por edad

L obs = promedio de la longitud observada de los peces por edad (cm)

LRn = promedio de las longitudes retro-calculadas por edad (negritas; cm)

En el presente trabajo, los modelos propuestos produjeron estadísticamente un buen ajuste según el coeficiente *R* (Cuadro 2). En cuanto a las curvas, además de la forma exponencial inversa y sigmoidea de cada modelo (Figura 2), todas

fueron del tipo asintótico característico del crecimiento de los peces, con un progreso a la par de la edad, hasta alcanzar una longitud teórica máxima (L_{∞}), a partir de la cual no crecen más (Sparre y Venema 1995).

Cuadro 2. Parámetros de crecimiento estimados por los modelos de von Bertalanffy, Logístico, Gompertz y Schnute y Richard, ajustados a los datos longitud-edad de *Colossoma macropomum* del Orinoco, sector Caicara-Cabruta

MODELO	R	L_{∞}	K	K_2	K_3	t_0	t_1	t_2	α	b
Von Bertalanffy	93,1	73,3	0,309			-0,358				
Logístico	92,5	62,0		0,800			1,465			
Gompertz	92,8	65,5			0,549			0,919		
Schnute-Richards	93,0	77,0	0,309						-0,895	1,051

R = coeficiente de determinación; L_{∞} = longitud asintótica; *K* = rapidez con que se alcanza L_{∞} ; K_2 = tasa de crecimiento relativo; K_3 = tasa de disminución exponencial del crecimiento relativo con la edad; t_0 = edad teórica del pez a la longitud cero; t_1 y t_2 = puntos de inflexión de la curva sigmoidea $t_2 = \frac{\ln X}{K_3}$; *a* y *b* = Parámetros del modelo de Schnute-Richards

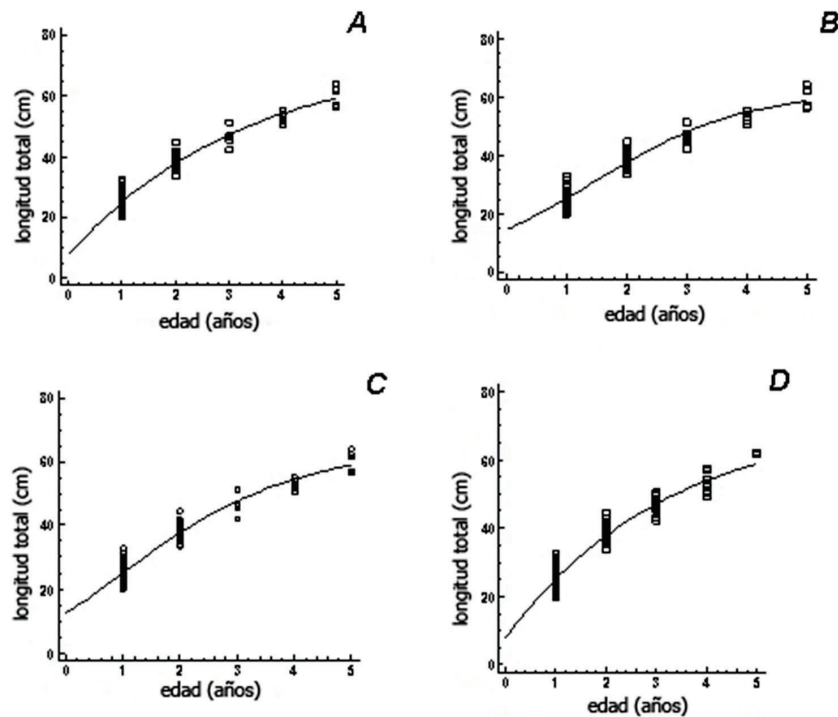


Figura 2. Curvas de crecimiento de *Colossoma macropomun* estimadas por los modelos de von Bertalanffy (A), Logístico (B), Gompertz (C) y Schnute-Richards (D).

Estadísticamente y según las curvas de crecimiento, los cuatro modelos se ajustaron eficientemente a los datos, quedando la incertidumbre de la selección del mejor modelo (Burnham y Anderson 2002, Katsanevakis 2006). Para esto, el criterio de la información de Akaike (AIC) basado en la información Kullback-Leibler (distancia K-L) como medida conceptual de la distancia relativa de un modelo dado con relación al que mejor describe la información de los datos (Burnham y Anderson 2002), proveyó información sustancial.

De acuerdo con el AIC_{min} , el modelo más parsimonioso o preciso en el ajuste de los datos correspondió al modelo de von Bertalanffy ($AIC_{min} = 194,1$; Cuadro 3); a partir del cual se obtuvo un $\Delta AICc = 9,5$ para el modelo Logístico que por su aproximación al valor de referencia $\Delta AICc > 10$ indicó un mal ajuste de los datos. Este mal ajuste del modelo se corroboró de igual forma por el relativamente bajo valor de W_i , que indicó un ajuste de apenas un 0,6 % del total de datos ($W_i =$

0,006; Cuadro 3). El $\Delta AICc$ para el modelo de Gompertz ($\Delta AICc = 4,2$), por el contrario, indicó un ajuste moderado de los datos; sin embargo, el relativamente bajo valor de $W_i = 0,082$ (Cuadro 3) indicó de igual forma un mal ajuste.

El L_{∞} estimado por los modelos Logístico y de Gompertz (Cuadro 2) se consideró biológicamente no confiable por presentar un valor similar al promedio de la longitud máxima observada (62,3 cm de longitud total) y al de la longitud máxima retro-calculada (61,9 cm de longitud total; Cuadro 1); lo cual, conjuntamente al mal ajuste que produjeron, llevaron a descartar dichos modelos para el estudio del crecimiento de la especie.

El $\Delta AICc$ estimado para el modelo de Schnute-Richards ($\Delta AICc = 2,1$; Cuadro 3) indicó un fuerte respaldo de los datos debido a su aproximación a dos (Arzola-Sotelo 2013); además de verificar al modelo de von Bertalanffy como el de mejor ajuste, por el valor del parámetro "b" que produjo

Cuadro 3. Parámetros del Criterio de la Información de Akaike para la comparación de los modelos de crecimiento de *Colossoma macropomum* en el Orinoco medio

MODELO	K	AICc	$\Delta AICc_i$	Wi	Wi(%)
Von Bertalanffy	4	194,1 ¹	0	0,678	67,8
Logístico	4	203,5	9,5	0,006	0,6
Gompertz	4	198,3	4,2	0,082	8,2
Schnute-Richards	5	196,2	2,1	0,240	24,0

¹ = AIC_{min} ; K = número de parámetros en cada modelo; AICc = criterio de información de Akaike para cada modelo; $\Delta AICc_i$ = diferencias entre los AICc; Wi = ponderación de Akaike

($b = 1,051$; Cuadro 2). En algunas regiones del Amazonas el modelo general de Schnute, de donde deriva el modelo de Schnute-Richards, también verificó al modelo de von Bertalanffy como el de mejor ajuste ($b = 1$; Penna *et al.* 2005); mientras que en las lagunas de la confluencia de los ríos Solimões y Japurá del estado de Amazonas, por el contrario, los modelos Logístico y de Gompertz fueron los que produjeron un mejor ajuste (Costa *et al.* 2013).

De esta manera se observó que los datos longitud-edad de *C. macropomum* han sido modelados de forma distinta en regiones diferentes, indicando que aparentemente la selección del modelo de mejor ajuste no sólo depende del patrón de crecimiento de la especie, sino también de la calidad y las características del conjunto de datos en cuanto a la información que contienen (Katsanevakis 2006, Katsanevakis y Maravelias 2008).

El objetivo de la teoría de la información para seleccionar modelos de crecimiento es no solo modelar los datos de longitud-edad que se utilizan en el estudio del crecimiento, sino también manifestar la información que dichos datos contienen (Buckland *et al.* 1997, Burnham y Anderson 2002).

El funcionamiento del modelo de von Bertalanffy depende en gran medida de la calidad de los datos y del tamaño de la muestra (Cailliet *et al.* 2006), ajustándose mejor a datos que contienen una información relativamente completa en cuanto a la composición por edad de la muestra (presencia de peces juveniles y viejos); tal como ocurrió en

el presente trabajo y en algunas regiones del Amazonas (Penna *et al.* 2005). Este tipo de información facilita el modelaje de un crecimiento asintótico desde un tamaño inicial L_0 hasta el tamaño asintótico L_∞ , con una tasa decreciente y sin punto de inflexión en la curva, característico del modelo de von Bertalanffy (Karkach 2006).

Cuando la información de los datos incluye solamente peces juveniles, como en el caso de las lagunas de la confluencia de los ríos Solimões y Japurá del estado de Amazonas, los datos no soportan bien el modelo de von Bertalanffy y se ajustan mejor a otros modelos como el Logístico y de Gompertz (Costa *et al.* 2013), considerando que dichos modelos tienden a caracterizar bien el crecimiento relativamente rápido en estadios temprano de la vida de los peces (Karkach 2006). Sin embargo, datos compuestos en su mayor parte por peces adultos tampoco se ajustan bien al modelo de von Bertalanffy (Costa *et al.* 2013).

El modelo de Schnute-Richards produjo un buen ajuste de los datos y verificó al modelo de von Bertalanffy como el más parsimonioso o preciso en el ajuste; sin embargo, ninguno de dichos modelos fue superior a otro ya que ambos producen valores de Wi por debajo de 0,9 (Cuadro 3), siendo necesaria la estimación de un modelo promedio. En las lagunas de la confluencia de los ríos Solimões y Japurá del estado de Amazonas, tampoco se observó superioridad alguna entre los modelos de Gompertz y Logísticos en cuanto al mejor ajuste y fue necesario la estimación de un modelo promedio (Costa *et al.* 2013).

Cuadro 4. Longitud asintótica (L_{∞}) del modelo promedio establecido a partir de los modelos de von Bertalanffy y de Schnute-Richards

MODELO	Wi	L_{∞}	L_{∞} estim	Var	EE	Valor inferior	Valor superior
Von Bertalanffy	0,738	73,3	54,1	17,8	14,5	39,6	68,6
Schnute-Richards	0,262	77,0	20,2	19,7	14,9	5,2	35,1
Modelo Promedio			74,3		29,4	44,8	103,7

Wi = Ponderación de Akaike; L_{∞} = Longitud asintótica; L_{∞} estim = Promedio de la longitud asintótica estimada para cada modelo; Var = Varianza del promedio de la longitud asintótica estimada para cada modelo; EE = Error estándar del promedio de la longitud asintótica estimada para cada modelo

Según el modelo promedio, el L_{∞} estimado para *C. macropomum* en el Orinoco medio fue de 74,3 (44,8 – 103,7) cm de longitud total (Cuadro 4), aproximadamente igual al valor 73,3 (65,0 – 81,6) estimado originalmente a partir del ajuste no lineal del modelo de von Bertalanffy (Cuadro 2) y al valor 77,0 (68,3-85,9) de Schnute-Richards (Cuadro 2), excepto el intervalo de confianza.

Sin embargo, el L_{∞} estimado según el modelo promedio fue el que mejor se adaptó a la longitud máxima que la especie alcanza en la naturaleza, en comparación con los estimados de los modelos de von Bertalanffy y de Schnute-Richards; considerando que la longitud máxima observada para el río Orinoco es de 92 cm de longitud total (Lasso y Sánchez-Duarte 2011) y la estimada para el río Apure es de 88,7 cm de longitud total (Pérez-Lozano y Barbarino 2013). Esto se observó de igual forma para el L_{∞} estimado en algunas regiones del Amazonas boliviano como Beni (74,4 cm de longitud estándar) y Mamore (74,8 cm de longitud estándar) reportados por Maldonado (2004), y para las lagunas de inundación del estado de Amazonas (90,4 cm de longitud a la Forka) establecido por Costa (2013).

El valor de K según el modelo promedio fue de 0,309 año⁻¹ (0,158-0,460) (Cuadro 5), igual al valor 0,309 año⁻¹ (0,227-0,390), estimado a partir del ajuste no lineal del modelo de von Bertalanffy y el de Schnute-Richards, excepto el intervalo de confianza. En promedio, estas estimaciones fueron similares a las determinadas previamente en el río Apure ($K = 0,250$ año⁻¹) por Pérez-Lozano y Barbarino (2013), así como en el Amazonas boliviano, específicamente los ríos Beni ($K = 0,276$ año⁻¹) y río Mamoré ($K = 0,246$ año⁻¹), reportadas por Maldonado (2004). De igual forma en el estado Amazonas ($K = 0,230$ año⁻¹) y el bajo Amazonas con un valor de $K = 0,230$ año⁻¹ reportadas por Petrere (1983) e Isaac y Rufino (1996). Sin embargo, el valor de K determinado a partir del modelo de von Bertalanffy y de Schnute-Richards, a diferencia del estimado con el modelo promedio, generaron incertidumbre en cuanto a los estimados de K en algunas regiones como el medio Solimões ($K = 0,156$ año⁻¹), el Amazonas Central ($K = 0,160$ año⁻¹), y 0,137 año⁻¹, reportados en otras regiones del Amazonas (Costa 1998, Villacorta-Correa 1997, Penna *et al.* 2005).

Cuadro 5. Rapidez del crecimiento K del modelo promedio establecido a partir de los modelos de von Bertalanffy y de Schnute-Richards

MODELO	Wi	K	K estim	Var	EE	Valor inferior	Valor superior
Von Bertalanffy	0,738	0,309	0,228	0,008	0,090	0,138	0,318
Schnute-Richards	0,262	0,309	0,081	0,003	0,061	0,020	0,142
Modelo Promedio			0,309		0,151	0,158	0,460

Wi = ponderación de Akaike; K = rapidez del crecimiento; K estim = promedio del parámetro de curvatura estimada para cada modelo; Var = Varianza del promedio del parámetro de curvatura estimada para cada modelo; EE = Error estándar del promedio del parámetro de curvatura estimada para cada modelo

La correspondencia de los estimados del L_{∞} y K del modelo promedio con relación a los determinados para algunas regiones donde los valores del modelo de von Bertalanffy dejaron incertidumbre, demostró la importancia del uso de la inferencia multimodal en lugar de la selección a priori de dicho modelo para el estudio del crecimiento de la especie y de los peces en general.

Según el estimado de K , *C. macropomum* tuvo un crecimiento relativamente rápido que le permitió alcanzar más del 50 % del promedio de la longitud máxima estimada (37,2 cm de longitud total) a la edad de dos años (Cuadro 2); algo considerado como una ventaja adaptativa para evitar los depredadores (Cerdenares Ladrón de Guevara *et al.* 2011).

El parámetro de condición inicial t_0 no se pudo promediar por cuanto el modelo de Schnute-Richards no lo determinó directamente; sin embargo, en el modelo promedio se conjeturó que fue igual al estimado por el modelo de von Bertalanffy ($t_0 = -0,358$ año; Cuadro 2), por la correspondencia que hubo entre los dos modelos y por la igual proyección de las curvas de crecimiento (Figura 2A y 2D) sobre el eje de las ordenadas, en donde los puntos de corte corresponden a t_0 (Sparre y Venema 1995).

Según los valores promedio de K ($0,309 \text{ año}^{-1}$) y t_0 ($-0,358$ año) la longevidad media de *C. macropomum* fue de 9,5 años. Este valor es menor al intervalo 13 - 20 años reportado en el Amazonas (Petreire 1983, Isaac y Rufino 1996); sin embargo, si se considera el límite inferior estimado para K ($0,158 \text{ año}^{-1}$), la longevidad promedio sería de aproximadamente 19 años.

En las lagunas de la confluencia de los ríos Solimões y Japurá del estado de Amazonas, la longevidad de *C. macropomum* fue de 25 años (Costa *et al.* 2013), mayor que la reportada para el Orinoco y el Amazonas. Sin embargo, la diferencia pudo estar relacionada con la metodología utilizada para determinar t_0 , por cuanto en dichas lagunas fue estimado a partir de la curva de crecimiento, ante la ausencia de estimados de K y t_0 . En este sentido, utilizando los valores de K y t_0 determinados por Costa (1998) para el medio Solimões, la longevidad promedio fue de

18 años; la cual probablemente sería la longevidad que la especie alcanza realmente en la región del Solimões, incluyendo las lagunas de inundación de la confluencia de los ríos Solimões y Japurá del estado de Amazonas.

Los parámetros de crecimiento de *C. macropomum* en el medio Orinoco presentaron diferencias numéricas con relación a otras regiones del Amazonas, determinadas generalmente por la estrecha relación inversa entre K y L_{∞} (Penna *et al.* 2005); sin embargo, el tipo de crecimiento parece ser el mismo al comparar los modelos de crecimiento según los parámetros estimados por Penna *et al.* (2005) para el Amazonas ($L_{\infty} = 100,39$ cm; $K = 0,137 \text{ año}^{-1}$; $t_0 = -1,676$ año) con los calculados en este trabajo para el Orinoco medio ($L_{\infty} = 74,3$ cm; $K = 0,309 \text{ año}^{-1}$; $t_0 = -0,230$ año). De acuerdo al método de comparación de modelos de crecimiento de Chen (Chen *et al.* 1992, González *et al.* 2005), se demostró la no existencia de diferencias significativas entre dichos modelos ($P > 0,05$).

CONCLUSIONES

Colossoma macropomum tiene un crecimiento relativamente rápido en el Orinoco medio, donde puede alcanzar más de la mitad del promedio de su longitud máxima a la edad de dos años; una edad que además corresponde a la de los peces que son capturados en mayor cantidad.

Por otra parte, los parámetros de crecimiento estimados en el trabajo no se pudieron utilizar para inferir acerca del estrés de la pesquería sobre el recurso, debido a que son los primeros que han sido reportados en el Orinoco. Sin embargo, considerando que el estimado de K fue relativamente mayor que el reportado para algunas regiones del Amazonas, es posible que en el Orinoco la presión de la pesca esté obligando a la especie a desviar su energía para madurar sexualmente a una edad más joven, conduciendo a una sobrepesca de crecimiento que está siendo demostrada por el tamaño relativamente pequeño de los peces que se están desembarcando.

LITERATURA CITADA

- Aragón-Noriega, EA.; Alcántara-Razo, E; Valenzuela - Quiñonez, Rodríguez-Quiroz, W. 2015. Multi-model inference for growth parameter estimation of the big eye croaker *Micropogonias megalops* in the upper gulf of California. *Revista de biología marina y oceanografía* 50(1):25-38.
- Araújo-Lima, C; Gouldin, M. 1997. So Fruitful a Fish. Ecology, Conservation, and Aquaculture of the Amazon's Tambaqui. New York, USA, Columbia University Press. 191 p.
- Arzola-Sotelo, A. 2013. Aplicación de la teoría de modelos múltiples en la evaluación del crecimiento individual del chano (*Micropogonias megalops*, Gilbert 1890) en el norte del Golfo de California. Tesis de maestría. Guaymas, México, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. 81 p.
- Baer, A; Schulz, A; Traulsen, I; Krieter, J. 2011. Analysing the growth of turbot (*Psetta maxima*) in a commercial recirculation system with the use of three different growth models. *Aquaculture International* 19(3):497-511.
- Booth, A; Merron, G; Buxton, C. 1995. The growth of *Oreochromis andersonni* (Pisces: Cichlidae) from the Okavango Delta, Botswana, and a comparison of the scale and otolith methods of ageing. *Environmental Biology of Fishes* 43(2):171-178.
- Buckland, ST; Burnham, KP; Augustin, NH. 1997. Model selection: an integral part of inference (en línea). *Biometrics* 53(2):603-618. Consultado 10 oct. 2017. Disponible en <http://dx.doi.org/10.2307/2533961>.
- Burnham, KP; Anderson, DR. 2002. Model selection and multimodel inference: A practical information-theoretic approach. New York, USA. Springer. 488 p.
- Cailliet, GM; Smith, WD; Mollet, HF; Goldman, KJ. 2006. Age and growth studies of chondrichthyan fishes: the need for consistency in the terminology, verification, validation, and growth function fitting. *Environmental Biology of Fishes* 77(3):211-228.
- Campana, SE. 1990. How reliable are growth back - calculations based on otoliths?. *Canadian Journal of Fisheries and aquatic Sciences* 47(11):2219-2227.
- Cerdenares-Ladrón de Guevara, G; Morales-Bojórquez, E; Rodríguez-Sánchez, R. 2011. Age and growth of the sailfish *Istiophorus platypterus* (Istiophoridae) in the Gulf of Tehuantepec, Mexico. *Marine Biology Research* 7(5):488-499.
- Chen, Y; Jackson, DA; Harvey, HH. 1992. A comparison of von Bertalanffy and polynomial functions in modeling fish growth data. *Canadian Journal of Fisheries and aquatic Sciences* 49(6):1228-1235.
- Costa, LRF. 1998. Subsídios ao Manejo do Tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) na várzea do Médio Solimões: pesca, dinâmica de população, estimativa de densidade e dispersão. Dissertação de mestrado. Manaus, Brasil, INPA. 76 p.
- Costa, LRF; Barthem, RB; Albernaz, AL; Bittencourt, MM, Villacorta-Corrêa, MA. 2013. Modelling the growth of tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) in floodplain lakes: model selection and multimodel inference (en línea). *Brazilian Journal of biology* 73(2):397-403. Consultado 10 oct. 2017. Disponible en <http://bit.ly/2Q2Sy8J>
- Cruz-Vásquez, R; Rodríguez-Domínguez, G; Alcántara-Razo, E; Aragón-Noriega, EA. 2012. Estimation of individual growth parameters of the Cortes Geoduck *Panopea globosa* from the Central Gulf of California using a multi model approach. *Journal of shellfish Research* 31(1):725-732.
- Duponchelle, F; Panfili, J. 1998. Variations in age and size at maturity of female Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, populations from man-made lakes of Côte d'Ivoire. *Environmental Biology of Fishes* 52(1):453-465.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2005. Fishery Country Profile. Subsector de la pesca continental en Venezuela (en línea). FID/CP/VEN. Consultado 22 ago. 2005. Disponible en <http://bit.ly/3614H3x>

- Gherard, KE; Erisman, BE; Aburto-Oropeza, OK; Rowell, K; Allen, LG. 2013. Fishery-dependent estimates of growth, development, and reproduction in Gulf Corvine (*Cynoscion othonopterus*). Bulletin of the southern California Academy of Sciences. 112(1):1-18.
- González, A; Mendoza, J; Arocha, F; Márquez, A. 2005. Crecimiento de la curvinata de río *Plagioscion squamosissimus*, en el Orinoco medio. Zootecnia Tropical 23(2):155-170.
- González, A; Mendoza, J; Arocha, F; Márquez, A. 2010. Edad y crecimiento del bagre rayado *Pseudoplatystoma orinocoense* del Orinoco medio en Venezuela. Zootecnia Tropical 28(2):283-293.
- González, A; Mendoza, J; Arocha, F; Márquez, A. 2015. Edad y crecimiento del bagre dorado *Brachyplatystoma rousseauxi* del Orinoco medio, según anillos de la espina pectoral. Zootecnia Tropical 33(2): 153-161.
- González, A; Mendoza, J; Arocha, F; Márquez, A. 2016. Caracterización de la pesca artesanal en el río Orinoco sector Caicara-Cabruta 2004-2008. Zootecnia Tropical 34(1):23-35.
- INSOPESCA (Instituto Nacional Socialista de Pesca y Acuicultura) 2002. Providencia administrativa n.º 002, Regulación de la pesca en río Orinoco y sus afluentes ubicados en los estados Amazonas, Anzoátegui, Bolívar, Guárico, Monagas y Delta Amacuro. Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela 37472(64). 26 jun.
- INSOPESCA (Instituto Nacional Socialista de Pesca y Acuicultura) 2017. Producción Pesquera Continental (en línea). Consultado 9 nov. 2017. Disponible en http://www.insopesca.gob.ve/?page_id=582
- Isaac, VJ; Rufino, ML. 1996. Population dynamics of tambaqui *Colossoma macropomum* Curvier, in the lower Amazon Brazil. Fisheries management and ecology 3(4):315-333.
- Karkach, AS. 2006. Trajectories and models of individual growth. Demographic Research 15(12):347-400.
- Katsanevakis, S. 2006. Modelling fish growth: Model selection, multi-model inference and model selection uncertainty. Fisher Research 81: 229-235.
- Katsanevakis, S; Maravelias, CD. 2008. Modelling fish growth: multi-model inference as a better alternative to a priori using von Bertalanffy equation. Fish and Fisheries 9(2):178-187.
- Lasso, CA; Sánchez-Duarte, P. 2011. Los peces del delta del Orinoco. Diversidad, bioecología, uso y conservación. Caracas, Venezuela, Fundación La Salle de Ciencias Naturales y Chevron C.A. 500 p.
- Loubens, G; Panfili, J. 1997. Biologie de *Colossoma macropomum* (Teleostei: Serrasalmidae) dans le bassin du Mamoré (Amazonie bolivienne). Ichthyological exploration of freshwaters 8(1):1-22.
- Maldonado, SLE. 2004. Biología de la reproducción y crecimiento de *Colossoma macropomum* en la Amazonía boliviana. Tesis de Maestría. La Paz, Bolivia, Universidad Mayor de San Andrés. 67 p.
- Mercier, L; Panfili, J; Paillon, C; N'diaye, A; Mouillot, D; Darnaude, AM. 2011. Otolith reading and multi-model inference for improved estimation of age and growth in the gilthead seabream *Sparus aurata* (L.). Estuarine Coastal and Shelf Science 92(4):534-545.
- Morales-Nin, B. 1992. Determination in growth of bony fishes from otolith microstructure. Rome, Italy. FAO. Fisheries Technical Paper n° 322. 51 p.
- Novoa, DF. 2002. Los recursos pesqueros del eje fluvial Orinoco-Apure: Presente y Futuro. Caracas, Venezuela, Ministerio de Agricultura y Tierra, INAPESCA. 148 p.
- Novoa, D; Ramos, F. 1982. Aspectos generales de la biología de las principales especies de peces de importancia comercial en el río Orinoco. En: Los recursos pesqueros del río Orinoco y su explotación. Caracas, Venezuela, CVG. p. 107-128.
- Novoa, D; Ramos, F; Cartaya, E. 1984. Las pesquerías artesanales del río Orinoco,

- Sector Caicara-Cabruta. Parte I. Memoria de la Sociedad de Ciencias Naturales La Salle 121(44):163-215.
- Panfili, J. 1992. Estimation de l'âge individuel des poissons: méthodologies et applications à des populations naturelles tropicales et tempérées. These de doctorat. Montpellier, France, Université Montpellier II. 457 p.
- Penha, JMF; Mateus, LAF; Barbieri, G. 2004. Age and growth of the duckbill catfish (*Sorubim* cf. *lima*) in the Pantanal. Brazilian Journal of Biology 64(1):125-134.
- Penna, MAH; Villacorta-Correa, MA; Walter, T; Petrere Jr, M. 2005. Growth of the tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier) (Characiformes: Characidae): which is the best model?. Brazilian Journal of Biology 65(1):129-139.
- Pérez-Lozano, A; Barbarino, A. 2013. Parámetros poblacionales de los principales recursos pesqueros de la cuenca del río Apure, Venezuela (2000-2003). Latin American Journal of Aquatic Research 41(3):447-458.
- Petrere Jr, M. 1983. Yield per recruit of the tambaqui *Colossoma macropomum* Curvier, in the Amazonas state, Brazil. Journal of Fish Biology 22: 133-144.
- Sparre, P; Venema, SC. 1995. Introducción a la evaluación de recursos pesqueros tropicales. Parte 1: Manual. Roma, Italia. FAO. Documento Técnico de Pesca nº 306/1 Rev.1. 420 p.
- Villacorta-Corrêa, MA. 1997. Estudo de idade e crescimento do tambaqui *Colossoma macropomum* (Characiformes: Characidae) no Amazonas Central, pela análise de marcas sazonais nas estruturas mineralizadas e microestruturas nos otólitos. Tese de Doutorado. Manaus, Brasil, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 217 p.
- Zhu, L; Li, L; Liang, Z. 2009. Comparison of six statistical approaches in the selection of appropriate fish growth models. Chinese Journal of Oceanology and Limnology 27:457-467.

Effects of the addition of gum Acacia and probiotics to yogurts with low sugar and fat contents

Maryane Gluck Torres¹, Magali Soares dos Santos Pozza^{1*}, Milene Osmari Puntel¹, Ana Carolina Pelaes Vital², Paula Matumoto Pintro², Grasielle Scaramal Madrona²

¹Universidades Estadual de Maringá (UEM), Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Maringá, PR, Brasil. ²Universidades Estadual de Maringá (UEM), Programa de Pós Graduação em Ciências de alimentos, Maringá, PR, Brasil. *Correio Eletrônico: pozzamagali@yahoo.com.br

ABSTRACT

Hydrocolloids are frequently added to dairy products to modify the texture or to prevent syneresis. The effect of adding different levels of acacia gum and probiotic cultures on the physical, chemical, sensory and microbiological characteristics of low-fat and -sugar yogurts was investigated. Four treatments were used with the following levels of gum inclusion: F1control (0 %); F2 (1 %); F3 (2 %) and F4 (3 %). The treatments were evaluated during a 21-day storage period under refrigeration; in the first 7 days, an increase in acidity and a decrease in pH values was observed, indicating the continued activity of the microbial cultures. There was a significant difference among the treatments ($P<0.05$) only for the variable "colour". Samples containing acacia gum were darker, with a tendency to a red or yellow colour. The addition of acacia gum did not favour the survival of the evaluated bacteria, although they were at appropriate levels according to the established guidelines. The yogurt with acacia gum was well accepted by the tasters, with satisfactory physico-chemical characteristics and the maintenance of the cellular viability of the final product.

Key words: *Acacia senegal*, milk products, yogurt

Efectos de la adición de goma de Acacia y probióticos a yogures con bajo contenido de azúcar y grasa

RESUMEN

Los hidrocoloides se agregan frecuentemente a los productos lácteos para modificar la textura o prevenir la sinéresis. Se investigó el efecto de la adición de diferentes niveles de goma de acacia y cultivos probióticos sobre las características físicas, químicas, sensoriales y microbiológicas de los yogures bajos en grasa y azúcar. Se utilizaron 4 tratamientos con los siguientes niveles de inclusión de goma: F1control (0 %); F2 (1 %); F3 (2 %) y F4 (3 %). Los tratamientos fueron evaluados durante un período de almacenamiento de 21 días bajo refrigeración; en los primeros 7 días, se observó un aumento en la acidez y una disminución en los valores de pH, lo que indicó la actividad continua de los cultivos microbianos. Hubo una diferencia significativa entre los tratamientos ($P<0,05$) solo para la variable "color". Las muestras que contenían goma de acacia eran más oscuras, con tendencia a un color rojo o amarillo. La adición de goma de acacia no favoreció la supervivencia de las bacterias evaluadas, aunque se mantuvieron en niveles apropiados de acuerdo con las pautas establecidas. El yogur con goma de acacia fue bien aceptado por los catadores, con características fisicoquímicas satisfactorias y el mantenimiento de la viabilidad celular del producto final.

Palabras clave: *Acacia senegal*, productos lácteos, yogur.

INTRODUCTION

Yogurt and fermented milk are among the most common fresh dairy products eaten around the world, and their consumption is associated with numerous health benefits (Donovan and Shamir 2014). These days, consumers view food as a way to improve their health and wellbeing, and manufacturers are responding proactively by offering new products that meet these requirements (Gray *et al.* 2003).

Many consumers fail to pay attention to nutritional values and calories when foods are shown as healthy, even if they are not (Chandon and Wansink 2007); this confirms the importance of indicating that the food contributes to consumer health (Küster-Boluda and Vidal-Capilla 2017).

Gum arabic, also referred to as acacia gum, exudes as a viscous fluid from the stems and branches of *Acacia* trees (specifically *Acacia senegal* and *Acacia seyal*), which grow across the Sahelian belt of Africa (Kennedy *et al.* 2012). The term 'gums' refers to a range of natural polymers, mainly polysaccharides, that are widely used in the food industry to control the rheological and organoleptic properties of food products. They are employed to perform a number of functions, including the thickening and gelling of products (Williams 2016). Key food applications include a range of confectionery products, flavoured oil emulsions and capsules and health foods as a source of soluble fibre with prebiotic properties; acacia gum has a fibre content of over 80 % (Thevenet 2012).

The increase in the demand for functional foods, such as fermented milks with probiotic microbial cultures, has sparked research to keep these microorganisms viable in the product (Burkert 2012). The viability of probiotics in yogurt is affected by various factors: the conditions under which the yogurt is stored, the type of the inoculated strain, the product's lactic acid concentration, the starter cultures used and the concentrations of hydrogen peroxide (H₂O₂) and oxygen in the yogurt (Hasani *et al.* 2016). In this sense, the use of acacia gum is promising, as it may also aid in the cellular protection of probiotic bacteria, which

has been shown by Souza *et al.* (2009) using *Lactobacillus casei* in ice cream.

The texture of the product and the propensity to syneresis are one of the main characteristics that will define the quality of the yogurt (Lee and Lucey 2010). One of the alternatives is the use of thickeners such as acacia gum, used as a substitute for fat, as it reduces calories with a minimum change in consumer acceptance.

However, a study conducted by Ribeiro *et al.* (2010), evaluating the yogurt market study, found that 39.9 % of the respondents said they did not consume light/diet yogurt because they did not like it. Fermented milk, yogurts and whey beverages are products that are highly appreciated in Brazil by a large population of all ages. They are produced via similar technological processes, but differ in their chemical compositions, ingredients and sensory characteristics. There are many products available on the market, including those containing functional ingredients (probiotic and prebiotic) or for specific nutritional uses (lactose-free as well as light and diet formulations; Pimentel *et al.* 2017).

In view of the above, the objective of this study was to evaluate the effects of the addition of increasing levels of acacia gum on the characteristics of yogurt containing probiotic bacteria and with low levels of fat and sugar.

MATERIAL AND METHODS

Around 40 litres of yogurt, obtained from fermentation in an oven at 43°C, were prepared using UHT milk (Santa Clara® skimmed). After fermentation, the gel was cooled to 37°C, and the mass was broken together with 0.6 mL/L passion fruit flavouring (Mix Saborforte®; 0.02 g/L colorant, Arcolor®; 0.07 % aspartame, Zero cal®). The use of aspartame and the concentrations employed are in agreement with Reis (2007).

For the formulations, four concentrations (0 to 3 %) of acacia gum (Fibregum®Nexira) were used, and the samples were packed in 1-L flasks for further microbiological and sensory analyses. A Bio-Rich® Probiotic culture, containing *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium* BB-12 and *Streptococcus thermophilus*, was added

according to the manufacturer's recommendations. The experiment was repeated three times.

- *pH value evaluation*

The pH was determined using a digital pH meter (IAL2008).

- *Titrateable acidity evaluation*

Acidity, in terms of degrees Dornic, was determined by titration (Mapa 2007).

- *Bacterial viability evaluation*

The samples were stored for 21 days at 4°C and evaluated on days 1, 7, 14 and 21 for pH value, acidity and viable cells of *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. The M17 agar media were incubated at 37°C for 48 h for streptococci, the MRS agar at 37°C for 72 h for lactobacilli and Agar Bifidobacterium for bifidobacteria, both with incubation in anaerobic conditions (Silva *et al.* 1997).

- *Syneresis, texture and colour evaluation*

Syneresis was analysed via centrifugation (Guzmán-González 2000). For this, natural yogurt (25 g) was prepared in 50 mL conical falcon tubes and centrifuged at 500 g for 10 minutes at 4°C. Syneresis was expressed as a percentage of serum released in the centrifugation.

The texture profile was evaluated according to Rawson and Marshall (1997) in a universal texturometer with a 35 mm diameter flat-bottom cylindrical probe (A/BE 35).

The results were obtained with the aid of the Texture Expert version 1.11 for TPA (Texture Profile Analysis). The parameters of interest were firmness, adhesiveness, cohesiveness, gumminess and elasticity. The 50 mL samples fermented in plastic cups with 9.2 cm in height and an inner diameter superior and inferior of 6.6 and 5.0 cm, respectively; were analysed immediately after being removed from the refrigerator. The measurement conditions were standardised in a probe gauge of 60 mm, with a penetration force of 15 g and a compression speed of 3 mms⁻¹.

The colour was determined via the CIELAB system in Minolta® CR400 equipment, using the

colour parameters L* (brightness), a* and b* (chromaticity coordinates).

- *Sensory analysis*

Samples were submitted to sensory evaluation by a team of 200 untrained testers (50 people per time); process was approved by the Ethics Committee, number 43116114.1.0000.0104, for each experimental period (1, 7, 14 and 21 days).

The analysed parameters were overall appearance, colour and aroma; in addition, the judges were asked to indicate the frequency of consumption and the intention to buy the products if they were available for sale on the market.

For the evaluation, a token was used with a hedonic scale of four points, with the extremes 1 (I disagree greatly) and 4 (I liked it very much).

For the frequency of consumption, a four-point scale was used, in which 4 represented the maximum grade (always consumed) and 1 the minimum grade (never consumed).

For the calculation of the product acceptability index, the expression:

$$IA(\%) = \frac{A \times 100}{B}$$

was adopted, where *A* = average grade obtained for the product and *B* = maximum grade given to the product. The IA with good acceptability was considered greater than or equal to 70 %.

- *Statistical analysis*

The data were submitted to analysis of variance (ANOVA), with averages being compared by Tukey's test when the differences were verified. The results were significant at P<0.05. For all analyses, we used the software package SAS (version 9.1.3, 2003).

RESULTS AND DISCUSSION

- *pH values and bacterial viability*

There was no difference among the treatments in relation to the pH values (Table 1). Maestri *et al.* (2014) and Robinson *et al.* (2006) have obtained similar pH values during evaluating yogurt samples. Thus, the mean pH values between 4.22

Table 1. pH values and microbiological counts of fermented milk with different levels of acacia gum

Parameters	Levels of inclusion of acacia gum (%)				SE	P
	0	1	2	3		
pH	4.27	4.31	4.28	4.30	0.016	0.2154
	Microbiological count (CFU/mL)					
<i>Lactobacillus sp.</i>	8.00	7.54	7.17	8.55	0.440	0.2084
<i>Streptococcus sp.</i>	8.19	7.70	8.17	8.19	0.294	0.5828
<i>Bifidobacterium</i>	7.76	7.55	7.49	7.84	0.254	0.7375

SE= standard error

and 4.36 are in accordance with the levels considered to be ideal, which range from 4.0 to 4.4 (MAA 2000). At lower pH levels, rejection by consumers and clot contraction may occur; the latter is due to the reduced protein hydration, causing desorption (Bortolozo and Quadros 2007).

During the evaluation period, the product was post-acidified at 1 week after manufacturing (Table 2). The reduction of the pH and the accumulation of organic acids during refrigerated storage of fermented milk are defined as "post acidification", which is mainly attributed to the ongoing metabolic activity of *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*. However, Settachaimongkon *et al.* (2016) have observed significantly lower post-acidification in yoghurts, which might be associated with the decrease in viable counts of *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, responsible for the higher production of lactic acid.

Probiotic bacteria are sensitive to several factors, mainly pH values, with no acidic growth (4.0 to 4.5) or alkaline growth (8.0 to 8.5) being present, and the Bifidobacteria may not remain viable

throughout the shelf-life of the product and during the passage through the gastrointestinal tract (Silva 2016).

This fact has been proven through microbiological counts, and a significant reduction occurred during the shelf-life of the product (Table 2). A reduced viability has also been observed in studies such as that of Mathias (2011) when assessing the viability of traditional yogurt bacteria, which showed an increase in the microbial population from the 1st to the 15th day, with a decrease in the total number of viable bacteria in the last 15 days of storage, probably related to *Streptococcus thermophilus*. In the present study, for this microbial group, the counts increased at 7 days and were subsequently reduced. For lactobacilli, this increase occurred at 14 days, with reduced levels at 21 days. Such oscillations may have contributed to the reduction of the pH (7 days) and the subsequent increase due to the lower production of lactic acid by microorganisms.

Contradictory effects, related to the presence of acacia gum in yogurt-related microbiological counts,

Table 2. pH values and microbiological counts of fermented milk containing acacia gum as a function of storage times

Parameters	Shelf life (days)				SE	P
	1	7	14	21		
pH	4.35	4.23	4.29	4.29	0.016	0.006 ¹
	microbiological count (CFU/mL)					
<i>Lactobacillus sp.</i>	9.36	7.18	8.08	6.64	0.440	0.009 ²
<i>Streptococcus sp.</i>	7.91	8.97	7.93	7.38	0.294	0.023 ³
<i>Bifidobacterium</i>	7.44	7.70	8.27	7.24	0.254	0.084

¹ $\bar{Y} = 4.39 - 0.053x + 0.005x^2 - 0.0002x^3$ ($r^2 = 64.29$); ² $\bar{Y} = 10.296 - 1.037x + 0.106x^2 - 0.003x^3$ ($r^2 = 60.16$);

³ $\bar{Y} = 7.993 + 0.139x - 0.008x^2$ ($r^2 = 42.52$). SE= standard error

have been reported by Oliveira (2008), who observed an increase in probiotic bacteria and a better maintenance of viability during the storage period. Similarly, Rokka and Rantamaki (2010) reported that the incorporation of soluble fibre from Arabic gum in a milk-based medium during storage, increased the viability of *Lactobacillus paracasei*. In addition, the Bifidobacteria population encapsulated in Arabic gum survived better when compared to free cells.

The Brazil legislation (MAA 2000) determines the minimum viable quantity for probiotics between 10^8 and 10^9 colony-forming units (CFU) in the daily recommendation of the ready-to-eat product; in terms of the use of Bifidobacteria, the count will be 10^6 CFU/mL (MAA 2000). Considering these values, in the present study, the yoghurt samples met the recommended standards, although the bacterial numbers were reduced in the evaluated period (Table 2).

- *Titrate acidity*

There was no significant difference ($P > 0.05$) among treatments in relation to the titrate acidity. The use of acacia gum did not promote greater acidification, most likely because of its prebiotic effect through the stimulation of bacterial fermentation. Linear regression models were adjusted for the behaviour of the variable acidity as a function of time. There was an increase in the acid values with increasing storage time ($P < 0.05$), which is in line with the initial pH values. The mean values were 9.30; 10.44; 10.56 and 10.74 °D for 1; 7; 14 and 21 days respectively, equivalent to 0.93; 1.044; 1.056 and 1.074 g lactic acid/mL.

In relation to acidity, some studies have found yogurts with a final acidity of 0.6 to 1.5 %, expressed as lactic acid (Cunha *et al.* 2008). Despite the post-acidification observed, the percentages of lactic acid present in the yogurt after the total storage period are in accordance with the current legislation, which establishes concentrations between 0.6 and 2.0 % (MAA 2000).

- *Syneresis*

There was no significant difference among treatments in relation to this variable. Spontaneous whey separation is related to an unstable network, which can be due to an increase in the

rearrangement of the gel matrix and negatively affects consumer perception, as the consumer thinks that the product is deteriorated (Lobato Calleros *et al.* 2014). Other type of additives such as starches have been used to achieve fat mimetic properties by retaining substantial quantities of water into weak gel structures (Luo and Gao 2011). Likewise, Bravo-Núñez *et al.* (2019) tested modified and pre gelatinised starches in low-fat yogurts and found, for some samples, higher syneresis values when compared to the control samples.

- *Colour*

The addition of acacia gum influenced the colour of the product ($P < 0.05$). Samples containing 3 % acacia gum were darker, while those containing levels of 2 and 3% tended to be redder and yellow (Table 3).

In the perception and assessment of the overall appearance of food, colour is the most important quality attribute and influences consumer's acceptability. An undesirable colour may therefore lead to a poor acceptance and a lower market value (Wang *et al.* 2018). Talib *et al.* (2018) have observed no significant difference among tasters in the sensory perception of colour in samples of yogurt containing acacia gum.

- *Texture*

The addition of acacia gum to the formulations did not influence the parameters ($P > 0.05$) firmness, adhesiveness, cohesiveness, gumminess and elasticity (Table 4 and 5).

Pimentel (2009) found that the addition of inulin decreased the firmness in yogurt. The authors attributed these lower values due to an incompatibility between the polysaccharides and the milk proteins, causing the repulsive forces to generate exclusion of the protein molecules from the domain occupied by the polysaccharides, resulting in a decrease in protein concentration for gel formation and, consequently, a lower firmness of the gel.

In general, probiotic strains are selected on the basis of their safety, nutritive value and health-promoting properties, besides other valuable properties that

Table 3. Color parameters L*, a* and b* of fermented milks with different inclusion levels of Acacia Gum, days of storage and interaction between both

Acacia Gum (%)	Shelf life (days)				Average	SE	P
	1	7	14	21			
L*							
0	84.89	84.77	84.79	84.79	84.81 ^a	0.685	<0.0001 ¹
1	84.36	84.16	84.34	84.02	84.22 ^{ab}		0.5855 ²
2	84.19	83.73	83.59	81.85	83.34 ^b		0.4557 ³
3	81.13	81.76	80.01	81.78	81.17 ^c		
Average	83.64	83.61	83.18	83.11			
a*							
0	0.58	1.81	1.71	1.35	1.36 ^b	0.084	0.0014 ¹
1	1.02	1.03	1.77	1.71	1.38 ^b		<0.0001 ^{2*}
2	0.73	1.91	1.36	2.41	1.60 ^a		<0.0001 ³
3	0.98	1.61	1.69	1.95	1.56 ^a		
Average	0.83	1.59	1.63	1.86			
b*							
0	7.86	11.13	10.96	9.57	9.88 ^b	0.320	<0.0001 ¹
1	9.54	8.96	10.96	10.93	10.10 ^b		<0.0001 ^{2**}
2	8.22	11.44	10.18	13.36	10.80 ^a		<0.0001 ³
3	9.43	11.53	11.65	12.70	11.33 ^a		
Average	8.76	10.77	10.94	11.64			

¹Probabilities in relation to percentage inclusion of gum acacia; ²Probabilities in relation to storage times; ³Probability of interaction between gum acacia percentage and storage times; * $\hat{Y}=0.776 + 0.117x - 0.0032x^2$ ($r^2 = 57.50$); ** $\hat{Y} = 9.139 + 0.129x$ ($r^2 = 41.11$)

Table 4. Texture and acidity of fermented milk with different inclusion levels of gum acacia

Parameters	Levels of inclusion of acacia gum (%)				SE	P
	0	1	2	3		
Acidity (D)	10.37	10.03	10.10	10.54	0.472	0.8561
Firmness (N)	0.32	0.30	0.31	0.30	0.010	0.5471
Adhesiveness (g)	11.87	15.00	22.50	10.12	3.233	0.0696
Cohesiveness	0.92	0.89	0.96	0.96	0.082	0.9074
Gummy (g)	31.00	27.25	31.00	29.75	3.268	0.8301
Elasticity (mm)	2.37	2.53	2.35	2.52	0.257	0.9338

Table 5. Texture and acidity parameters of fermented milk during shelf life

Parameters	shelf life (days)				SE	P
	1	7	14	21		
Acidity (D)	9.30	10.44	10.56	10.74	0.472	0.1698
Firmness (N)	0.31	0.31	0.32	0.29	0.010	0.2465
Adhesiveness (g)	15.62	16.37	13.75	13.75	3.233	0.9148
Cohesiveness	0.89	0.95	0.97	0.92	0.082	0.9090
Gummy (g)	28.37	30.75	32.12	27.75	3.268	0.7610
Elasticity (mm)	2.22	2.33	2.87	2.36	0.257	0.3166

may influence the shelf-life, texture and appearance of the probiotic yogurt.

Some probiotic bacteria grow slowly in milk due to the lack of proteolytic activity, and their acidifying characteristic may affect the texture of the final product. A poor acidification performance in milk reduces the acid accumulation during storage and produces exopolysaccharides, which may provide a better texture. Microbial exopolysaccharides may improve the texture of fermented products as they serve as emulsifying or gelling agents, thickening and stabilising the product (Fazilah *et al.* 2018).

According to Oliveira (2008), the presence of acacia gum and inulin did not modify the elasticity and firmness of yogurts for 64 days, obtaining lower values when compared to those of our study ($0.09 \pm 0.04\text{N/mm}$ vs $0.17 \pm 0.03\text{N/mm}$ for elasticity and $0.20 \pm 0.05\text{N}$ vs $0.27 \pm 0.04\text{N}$ for firmness).

Acacia gum readily dissolves in hot water and results in low-viscosity solutions; it can be used in concentrations of up to 10 % as soluble fibre without modifying the texture (Phillips *et al.* 2007). Due to its low viscosity in solution, acacia gum does not influence the texture parameters, which was observed in our study, using a maximum concentration of 3 %.

- *Sensorial analyses*

Most tasters preferred the formulation with 3 % acacia gum; 63 % of the tasters on day 1, 56 % on day 7, 72 % on day 14 and 70 % on day 20. However, when asked about the frequency of consumption, only 44 % of the tasters, on average, said they always consumed yogurt (Table 6).

The products had a characteristic colour, without lumps and with a homogeneous appearance,

Table 6. Sensory evaluation of fermented milk formulations containing acacia gum during the shelf life of the product

Days	0 %	1 %	2 %	3 %
1	1,84 ^a	2,02 ^a	2,38 ^a	2,86 ^b
7	2,70 ^a	2,68 ^a	3,40 ^b	3,40 ^b
14	2,56 ^a	2,76 ^a	3,24 ^b	3,56 ^b
21	3,08 ^a	3,32 ^a	3,48 ^a	3,46 ^a

Means followed by the same letter, in the same line, do not differ among themselves by the Tukey test at 5% probability.

with a mildly acidic flavour. The variable “global appearance” differed significantly among the samples, with the highest scores for the formulation with 3 % gum on the first day and with 2 % and 3 % gum at 7 and 14 days, respectively. There was no significant difference among the samples for aroma and colour attributes ($P>0.05$).

The overall appearance is translated by the “set”, relating to the first impression caused by the product, without representing the average of the scores of the other characteristics evaluated.

Previous studies have shown variations in the acceptance of yogurt samples with probiotic and prebiotic ingredients. An experiment to determine the effects of different acacia gum (AG) concentrations (0.5; 1.0 and 1.5 %) on organoleptic and physicochemical properties of yogurt was conducted using fresh cow’s milk with 3 % starter culture. The results showed that the organoleptic properties of the yogurt increased as the percentage of AG increased in all tested samples. Increasing the amount of AG concentrations in the milk significantly decreased the clotting time in all treatments. Yogurt produced with low concentrations of gum had longer coagulation times (100 - 110 min), while curd obtained with high concentrations of AG was firmer. An AG concentration of 1.5 % was ideal in terms of the previous characteristics in the manufacturing of yogurt, scoring highly for 85.3 % of the respondents (Talib 2018).

Oliveira and Jurkiewicz (2009) verified that probiotic yogurts made with the prebiotics inulin and acacia gum obtained an acceptance between 7.4 and 7.6 on a hedonic 9-point scale. For Capitani *et al.* (2014), evaluating yogurt containing probiotics and polydextrose, the scores attributed by the tasters in evaluating the overall impression of the yogurts ranged from 4.86 to 6.71 and from 5.57 to 6.91 on the 1st and 14th day of the manufacturing process, respectively.

When preparing fat-reduced or fat-free yogurts, the lack of fat globules results in textural changes that adversely affect mouthfeel and are not desired by consumers, as mouthfeel is an important parameter when it comes to yogurt product quality (Bravo-Núñez *et al.* 2019).

The consumers preferred the formulations with higher acacia gum contents, indicating the viability of this substance in the production and commercialisation of yogurt.

CONCLUSIONS

Yogurt with acacia gum was well accepted by the tasters, resulting in satisfactory physico-chemical characteristics and the maintenance of cellular viability, indicating its potential use in yogurt production.

CITED LITERATURE

- Bortolozzo, EQ; Quadros, MHR. 2007. Aplicação de inulina e sucralose em iogurte. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial* 1(1):37-47.
- Bravo-Núñez, A; Pando, V; Gómez, M. 2019. Physically and chemically modified starches as texturisers of low-fat milk gels. *International Dairy Journal* 92:21-27.
- Burket, JFM. 2012. Aceitação sensorial de bebidas lácteas potencialmente simbióticas. *Brazilian Journal of Food Technology* 15(4):325-332.
- Capitani, C; Hauschild, FAD; Friedrich, CJ; Lehn, DN; Souza, CFV. 2014. Caracterização de iogurtes elaborados com probióticos e fibra solúvel. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial* 8(2):1285-1300.
- Chandon, P; Wansink, B. 2007. The biasing health halos of fast-food restaurant health claims: Lower calorie estimates and higher side-dish consumption intentions. *Journal of Consumer Research* 34(3):301-314.
- Cunha, TM; de Castro, FP; Barreto, PLM; Benedet, HD; Prudêncio, ES. 2008. Avaliação físico-química, microbiológica e reológica de bebida láctea e leite fermentado adicionados de probióticos. *Semina: Ciências Agrárias* 29(1):103-116.
- Donovan, SM; Shamir, R. 2014. Introduction to the yogurt in nutrition initiative and the First Global Summit on the health effects of yogurt. *The American Journal of Clinical Nutrition* 99(5):1209s-1211s.
- Fazilah, NF; Ariff, AB; Khayat, ME; Rios-Solis, L; Halim, M. 2018. Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt. *Journal of Functional Foods* 48:387-399.
- Gray, J; Armstrong, G; Farley, H. 2003. Opportunities and constraints in the functional food market. *Nutrition and Food Science* 33(5):213-218.
- Guzmán-González, M; Morais, F; Amigo, L. 2000. Influence of skimmed milk concentrate replacement of skimmed milk concentrate replacement by dry dairy products in a low fat set type yogurt model system. Use of caseinates, co-precipitate and blended dairy powders. *Journal of the Science of food and agriculture* 8(4):433-438.
- Hasani, S; Khodadadi, I; Heshmati, A. 2016. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in rice bran-enriched stirred yoghurt and the physicochemical and sensory characteristics of product during refrigerated storage. *International Journal of Food Science and Technology* 51(11):2485-2492.
- IAL (Instituto Adolfo Lutz). 2008. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4th ed. São Paulo, Brasil, Instituto Adolfo Lutz. 1020p.
- Kennedy, JF; Phillips, GO; Williams, PA. 2012. The regulatory status of Gum Arabic. *In* Gum Arabic. Cambridge, UK, Royal Society of Chemistry Publishing. Special publication n°. 333. p.19-28.
- Küster-Boludaa, I; Vidal-Capilla, I. 2017. Consumer attitudes in the election of functional foods. *Spanish Journal of Marketing* 21(S1):65-79.
- Lee, WJ; Lucey, JA. 2010. Formation and physical properties of yogurt. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 23(9):1127-1136.
- Lobato-Calleros, C; Ramírez-Santiago, C; Vernon-Carter, EJ; Alvarez-Ramirez, J. 2014. Impact of native and chemically modified starches addition as fat replacers in the viscoelasticity

- of reduced-fat stirred yogurt. *Journal of Food Engineering* 131:110-115.
- Luo, Z; Gao, Q. 2011. Effect of enzyme-modified carboxymethyl starch as a fat replacer on the functional properties of sausages. *Starch* 63(10):661-667.
- MAA (Ministério da Agricultura e do Abastecimento). 2000. Resolução nº 5. Padrões de identidade e qualidade (PIQ) de leites fermentados. Diário Oficial da União, Brasília, DF. Seção 1, p. 9. 27 nov.
- MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). 2007. Instrução normativa no 46. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Diário Oficial da União, Brasília, DF. Seção 1, p. 05. 24 out.
- Mathias, TRS. 2011. Desenvolvimento de iogurte sabor café: avaliação sensorial e reológica. 2011. Dissertação de Mestrado. Rio de Janeiro, Brasil, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 109 p.
- Maestri, B; Herrera, L; Silva, NK; Ribeiro, ODH; Chaves, ACSD. 2014. Avaliação do impacto da adição de inulina e de maçã em leite fermentado probiótico concentrado. *Brazilian Journal of Food Technology* 17(1):58-66.
- Oliveira, BL. 2008. Efeito da goma acácia e da inulina na viabilidade de bactérias probióticas e nas características físico-químicas de leite fermentado simbiótico. 2008. Dissertação, de Mestrado. São Caetano do Sul, Brasil, Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia. 104 p.
- Oliveira, LB; Jurkiewicz, CH. 2009. Influência de inulina e goma acácia na viabilidade de bactérias probióticas em leite fermentado simbiótico. *Brazilian Journal of Food Technology* 12(2):138-144.
- Pimentel, TC. 2009. Iogurte probiótico com inulina como substituto de gordura. 2009. Tese de doutorado. Londrina, Brasil, Universidade Estadual de Londrina. 178 p.
- Pimentel, TC; Antunes, AEC; Zacarchenci, PB; Cortez, MAS; Bogsan, CSB; Oliveira, MN; Esmerino, EA; Silva, MC; Cruz, AG. 2017. Brazilian yogurt-like products. *In* Shah, N (ed.). *Yogurt in health and disease prevention*. Amsterdam, Netherlands, ELSEVIER. p. 331-351.
- Phillips, GO; Ogasawart, T; Ushida, AK. 2007. The regulatory and scientific approach to defining gum Arabic (*Acacia Senegal* and *Acacia Seyal*) as a dietary fibre. *Food Hydrocolloids* 22:24-35.
- Rawson, H; Marshall, VM. 1997. Effect of "ropy" strains of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* on rheology of stirred yogurt. *International Journal of Food Science and Technology* 32(3):213-220.
- Reis, RC. 2007. Iogurte "light" sabor morango: equivalência de doçura, caracterização sensorial e impacto da embalagem na intenção de compra do consumidor. 2007. Tese de doutorado. Viçosa, Brasil, Universidade Federal de Viçosa. 145 p.
- Ribeiro, MM; Minin, VPR; Minin, LA; Arruda, AC; Cerestino, EB; Carneiro, HCF; Cipriano, PA. 2010. Estudo de mercado de iogurte da cidade de Belo Horizonte/MG. *Revista Ceres* 57(2):151-156.
- Robinson, RK; Lucey, JA; Tamime, AY. 2006. Manufacture of Yoghurt. *In* *Fermented Milks*. Oxford, UK, Blackwell publishing. p. 53-75
- Rokka, S; Rantamaki, P. 2010. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: Challenges for industrial applications. *European Food Research and Technology* 231(1):1-12.
- SAS (Statistical Analysis System Institute). 2003. *The SAS for Windows: Release 9.1.3*. Cary: SAS.
- Settachaimongkon, S; Van Valenberg, HJF; Gazi, I; Nout, MJR; Van Hooijdonk, TCM; Zwietering, MH; Smid, E.J. 2016. Influence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1 on post-acidification, metabolite formation and survival of starter bacteria in set-yoghurt. *Food Microbiology* 59:14-22.

- Silva, N; Junqueira, VCA; Silveira, NFA. 1997. Manual de métodos de análise microbiológicas em alimentos. São Paulo, Brasil, Livraria Varela. 295 p.
- Silva, T. 2016. Microencapsulação de *Bifidobacterium lactis* e *Lactobacillus acidophilus* por coacervação complexa: estudo da produção, caracterização e viabilidade. Dissertação de Mestrado, Santa Maria, Brasil, Universidade Federal de Santa Maria. 116p.
- Souza, JC; Guergoletto, KL; Garcia, S; Sivieri, K. 2009. Viabilidade da adição de *Lactobacillus casei* (LC-1) protegido com trealose e goma acácia em sorvetes. Alimentos e Nutrição 22(2):231-237.
- Talib, MA; Rayis, OA; Konozy, EHE; Salih, MA. 2018. Effect of gum Arabic (prebiotic) on physicochemical and organoleptic properties of yogurt (probiotic). In Mariod, AA (ed.). Gum Arabic: Structure, properties, applications and economics. London, UK, ELSEVIER. p. 167-171.
- Thevenet, F. 2012. Acacia gum (on line). In: Möller, M; Matyjaszewski, K; McGrath, JE; Hickner, MA; Höfer, R (eds.). Polymer Science: A Comprehensive Reference. Amsterdam, Netherlands, ELSEVIER. p.205-212. Consulted 2 jan. 2018. Available in https://www.academia.edu/8665160/Polymer_Science
- Wang, J; Law, CL; Nema, PK; Zhao, JH; Liu, ZL; Deng, LZ; Gao, ZJ; Xiao, HW.2018. Pulsed vacuum drying enhances drying kinetics and quality of lemon slices. Journal of Food Engineering 224:129–138.
- Williams, P.A. 2016. Polysaccharide Ingredients: Gum Arabic. In Smithers, G; Day, Li; Ferranti, P; Fisher, A; Glibetic, M; Knoerzer, K; Lee, A; McSweeney, P; Robertson, G; Schasteen, C; Smith, N; Tanner, D; Varelis, P (eds.). Food Science. Amsterdam, Netherlands, ELSEVIER.

Uso de índices de condición para la determinación de la época de cosecha del mejillón en el golfo de Cariaco, Venezuela

Jaime Frontado¹, Berenice Licet², Vanessa Acosta^{1,3*}

¹Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente (UDO), Cumaná, Sucre, Venezuela. ²Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Sucre - Nueva Esparta, Venezuela. ³Universidad Técnica de Manabí, Bahía de Caráquez. Manabí, Ecuador.*Correo Electrónico: vanessaacosta@yahoo.com

RESUMEN

Con la finalidad de determinar la época de cosecha del mejillón *Perna perna* (L.1758) mediante el uso de diferentes índices de condición, se evaluaron mejillones en condiciones de cultivo suspendido en la ensenada de La Fragata, Golfo de Cariaco. Los organismos fueron obtenidos de los bancos naturales en la localidad de Guaca (costa norte del estado Sucre) y sembrados en cuerdas de caucho suspendidas en balsas. Durante 10 meses, se evaluaron mensualmente las variables biométricas de 20 organismos extraídos al azar (longitud total, biomasa fresca de la concha, biomasa fresca de tejidos y biomasa seca de tejidos). Las variables ambientales fueron registradas durante el mismo periodo y frecuencia. Los índices de condición analizados para determinar la talla apropiada de comercialización fueron $IC = \text{biomasa fresca de tejidos/biomasa de concha} \times 100$ e $IC = \text{biomasa fresca de tejidos/longitud total} \times 100$. El incremento continuo en talla y biomasa de los organismos estuvo influenciado por la talla de siembra y el periodo de surgencia costera, siendo la biomasa fitoplanctónica, estimada en clorofila *a*, el principal factor ambiental que moduló el comportamiento de los diferentes índices de condición y rendimiento. Después de 7 meses de cultivo, *P. perna*, alcanzó excelentes resultados tanto de talla, biomasa y rendimiento de tejido, lo cual lo hace favorable para su comercialización.

Palabras clave: maricultura, *Perna perna*, bivalvo, cultivo suspendido, surgencia costera, Golfo de Cariaco.

Use of condition indices for the determination of the mussel harvest time in the gulf of Cariaco, Venezuela

ABSTRACT

In order to determine the harvest time of the *Perna perna* mussel using different condition indices, mussels were evaluated under suspended culture conditions in the cove of La Fragata, Gulf of Cariaco. The organisms were obtained from natural banks in the town of Guaca (north coast of Sucre state) and planted in rubber ropes suspended in rafts. For 10 months, the biometric variables of 20 organisms extracted at random (total length, fresh shell biomass, fresh tissue biomass and dry tissue biomass) were evaluated monthly. The environmental variables were recorded during the same period and frequency. The most suitable condition indices for estimating spawning times were $CI = \text{fresh tissue biomass} / \text{shell biomass} \times 100$ and $IC = \text{fresh tissue biomass} / \text{total length} \times 100$; both indices estimated the months in which the organisms reached the greatest amount of tissue with the appropriate commercialization size. The continuous increase in size and biomass of the organisms was influenced by the sowing size and the period of coastal upwelling, being the phytoplankton biomass, estimated in chlorophyll *a*, the main environmental factor that modulated the behavior of the different condition and yield indices. The month of March turned out to be the most suitable harvest season for the *P. perna* mussel, reaching excellent results for both size, biomass and tissue yield, which makes it favorable for commercialization.

Key words: mariculture, *Perna perna*, bivalvia, suspended culture, condition index, Gulf of Cariaco.

Aprobado: junio 2018

INTRODUCCIÓN

Los índices de condición o cantidad relativa de carne, constituyen una herramienta eficiente que permite conocer el estado fisiológico (como la reproducción y el crecimiento) de los bivalvos, bajo ciertas condiciones ambientales (Orban *et al.* 2002, Mercado-Silva 2005, Sasikumar y Krishnakumar 2011). Pueden utilizarse para predecir la rentabilidad de los cultivos de los moluscos bivalvos, son rápidos, económicos y fáciles de calcular, además permiten conocer su rendimiento en condiciones controladas (Lucas y Beninger 1985, Tirado *et al.* 2005, Meryem *et al.* 2012, Abdul Rahim *et al.* 2012). De igual manera, son utilizados para determinar la calidad del producto a comercializar y la época de cosecha.

En Venezuela, los índices de condición han sido descritos para *Perna perna*, tanto en ambientes naturales, como en condiciones de cultivo. Arrieche *et al.* (2002), reportaron en los bancos naturales de *P. perna* del Morro de Guarapo, en la costa norte del estado Sucre, una excelente condición fisiológica durante todo el año, elevada producción de tejidos blandos y una talla comercializable que varía entre los 60 y 80 mm. En condiciones de cultivo, la mayor parte de las investigaciones, han sido realizadas en la ensenada de Turpialito, golfo de Cariaco, donde se ha reportado para *P. perna*, el mayor índice de condición y rendimiento a los 5 meses de cultivo, con una talla de 66 mm y una condición de madurez del 50 % de los organismos; aspectos importantes que sugieren el momento óptimo de cosecha de los mejillones para su consumo. Lo anterior indica la alta rentabilidad del cultivo de esta especie dentro del golfo (Acosta *et al.* 2006, Acosta y Prieto 2008, Acosta *et al.* 2009).

El rápido crecimiento y producción de tejidos (somático y gonádico) de *P. perna* bajo condiciones de cultivo en la ensenada de Turpialito, está asociado con la eficiencia con la que explota los recursos alimenticios del medio, acumulándolos en forma de carbohidratos, particularmente en el músculo y la glándula digestiva, principales tejidos de reservas energéticas (Narvaez *et al.* 2008). Luego, en respuesta a condiciones de baja disponibilidad de alimento, son movilizadas

para sobrellevar parte de la actividad reproductiva, siendo el peso de la gónada determinante en la estimación de la condición generalizada del mejillón (Acosta *et al.* 2010).

De acuerdo a lo antes señalado, el golfo de Cariaco es un escenario idóneo para el desarrollo del cultivo de *P. perna*. No obstante, la masificación del cultivo de este bivalvo en otras áreas dentro del golfo es necesaria. Para esto, se requiere la evaluación de nuevas zonas de cultivo para realizar estudios dirigidos a valorar los cambios que ocurren en el desempeño de la condición somática, valor nutritivo y períodos de engorde en relación al ambiente, de estos moluscos bivalvos.

En este sentido, la ensenada de La Fragata posee aguas con una calidad microbiológica adecuada para el establecimiento de cultivos acuáticos; en las mismas, ocurren anualmente diferentes cambios fisicoquímicos que le proporcionan gran fertilidad, como resultado de la surgencia costera (Rivas *et al.* 2010). Por otra parte, el estado fisiológico de un organismo en condiciones de cultivo, refleja la tendencia promedio de la proporción de tejidos en relación al tamaño de la concha, masa o gónadas. En relación a lo antes expuesto, el objetivo de este estudio fue determinar la época de cosecha del mejillón *Perna perna*, mediante el uso de los índices de condición, en la ensenada de La Fragata, Golfo de Cariaco.

METODOLOGÍA

Área de estudio

El estudio se realizó en La Fragata, ensenada de 308 x 151,88 m, ubicada en la costa sur del golfo de Cariaco (10°27'6,71"N; 65°56'41,19"O), estado Sucre, Venezuela (Figura 1).

Procedimiento general

Se sembraron 40 kg de mejillón, con una talla promedio de $44,5 \pm 5,13$ mm, procedentes del eje costero Guaca - Guatapanare (10°39'39,06"N; 63°25'24,09"O). Los organismos fueron distribuidos en 36 cuerdas de caucho de 3 m de longitud y 1,9 cm de diámetro, colocadas en 2 balsas (18 cuerdas por balsa). Estas estructuras

flotantes fueron instaladas a 800 m de la costa, por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA); las mismas fueron construidas con tubos de policloruro de vinilo (PVC), listones de madera, tubos de aluminio y tornillos de acero inoxidable para su ensamble.

Registro de variables ambientales

Se tomaron registros de la temperatura y salinidad del agua con una frecuencia mensual (julio 2013 - abril 2014). Este procedimiento fue realizado mediante una sonda multiparamétrica modelo YSI6600.



Figura 1. Ubicación geográfica del área de estudio; (A) Guaca, eje costero Guaca-Guatapanare, zona de colecta de mejillones y (B) La Fragata, golfo de Cariaco, zona de cultivo de mejillones, Venezuela.

Para determinar la disponibilidad de alimento, se cuantificaron la clorofila *a* por espectrofotometría, mientras que el seston, mediante métodos gravimétricos, de acuerdo a las recomendaciones en Strickland y Parsons (1972).

Registro de variables biométricas

Se extrajeron mensualmente 3 cuerdas de cada balsa de manera aleatoria y se tomaron aproximadamente 20 organismos. De cada mejillón se registraron las variables biométricas longitud total (Lt), biomasa total (Bt), biomasa fresca (Bft), biomasa de la concha (Bc) y biomasa seca (Bst). La medición de Lt se realizó con un vernier digital marca Mitutoyo de 0,01 mm de precisión; para la determinación de Bft, se separaron los tejidos blandos de la concha, y luego se pesaron en una balanza analítica de marca

(PW 254-aeADAM - Max 250g d = 0,0001g). Para la obtención de Bst, se tomaron los tejidos blandos, se les retiró el exceso de humedad con papel secante y seguidamente fueron sometidos a deshidratación en una estufa (L-COVEN-LAB-LINE- Barnstead-International), a 60 °C, durante 48 h o hasta obtener una masa constante. Una vez deshidratados, fueron pesados nuevamente.

Índices de condición

Con los datos biométricos de cada ejemplar de *P. perna*, se calcularon los siguientes índices de condición (IC):

$$IC1 = \left[\frac{Bft}{Bc} \right] \times 100$$

(Nascimento y Pereira 1980)

$$IC2 = \left[\frac{Bst}{Bc} \right] \times 100$$

(Davenport y Chen 1987)

$$IC3 = \left[\frac{Bft}{Lt} \right] \times 100$$

(Kagley *et al.* 2003)

$$IC4 = \left[\frac{Bst}{Lt} \right] \times 100$$

(Martin *et al.* 1984)

De igual forma, se calculó el índice de rendimiento (R):

$$R = \left[\frac{Bft}{Bt} \right] \times 100$$

(Hickman e Illingworth 1980)

Se determinaron las diferencias mensuales en los índices de condición y de rendimiento de carne en los individuos *P. perna*. Se establecieron relaciones entre los índices de condición y los parámetros ambientales evaluados.

Análisis estadístico

Se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, debido a que los datos no presentaron varianzas homogéneas y no se ajustaron a la curva de distribución normal. La relación entre los índices de condición y los parámetros ambientales fue establecida mediante un análisis de componentes principales (ACP), donde los índices de condición se tomaron como variables dependientes y los parámetros ambientales como variables independientes. Los análisis anteriores se realizaron con el programa estadístico Stagraphics Centurion XV (Statpoint 2006).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variables ambientales

No se evidenciaron cambios notables en la salinidad y el pH durante el periodo de estudio. Se observaron valores entre las 36,8 y 38,02 UPS para la salinidad (Figura 2A), y entre 7,7 y 8,2 para el pH (Figura 2B). En el caso del Oxígeno disuelto (Figura 2C), se observaron fluctuaciones, con un valor máximo en febrero (11,02 ± 0,55 mg/l), y un descenso marcado hasta alcanzar su

mínimo valor en el mes de marzo (3,53 ± 1,52 mg/l). De igual forma, la temperatura mostró variación en un intervalo de 6 °C durante el periodo de estudio (Figura 3A), con un registro superior en septiembre de 2013 (28,8 ± 0,06 °C), para luego descender progresivamente hasta abril de 2014, último mes de estudio, donde alcanzó los 22,08 ± 0,26 °C.

La biomasa fitoplanctónica, estimada por clorofila *a* (Figura 3B), presentó un patrón inverso a la

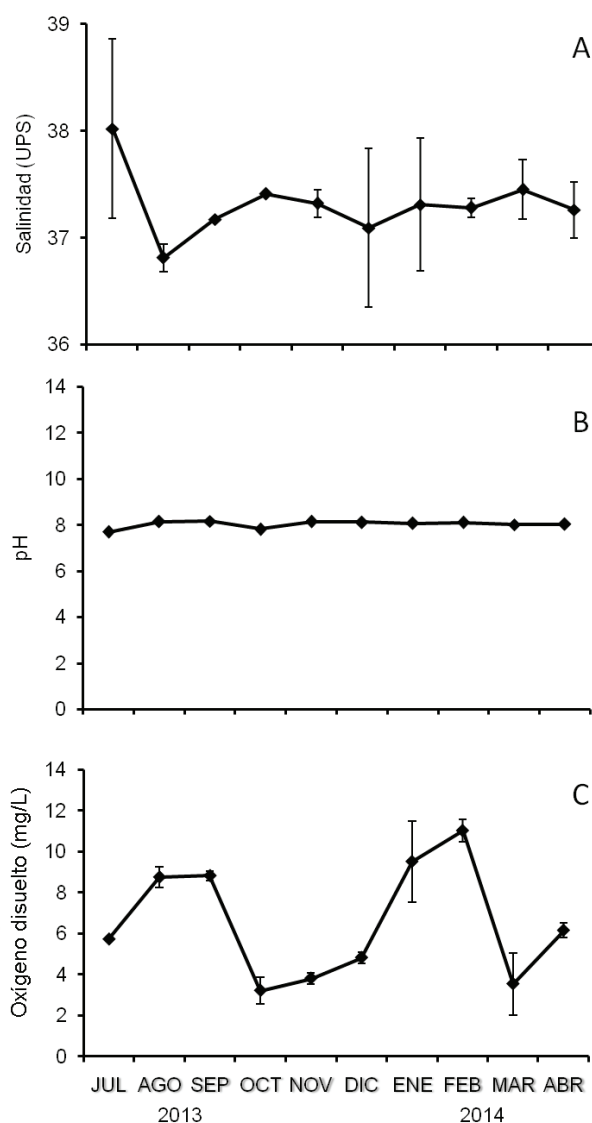


Figura 2. Variación mensual de la salinidad (A), pH (B) y Oxígeno disuelto (C), en la ensenada La Fragata, golfo de Cariaco-Venezuela.

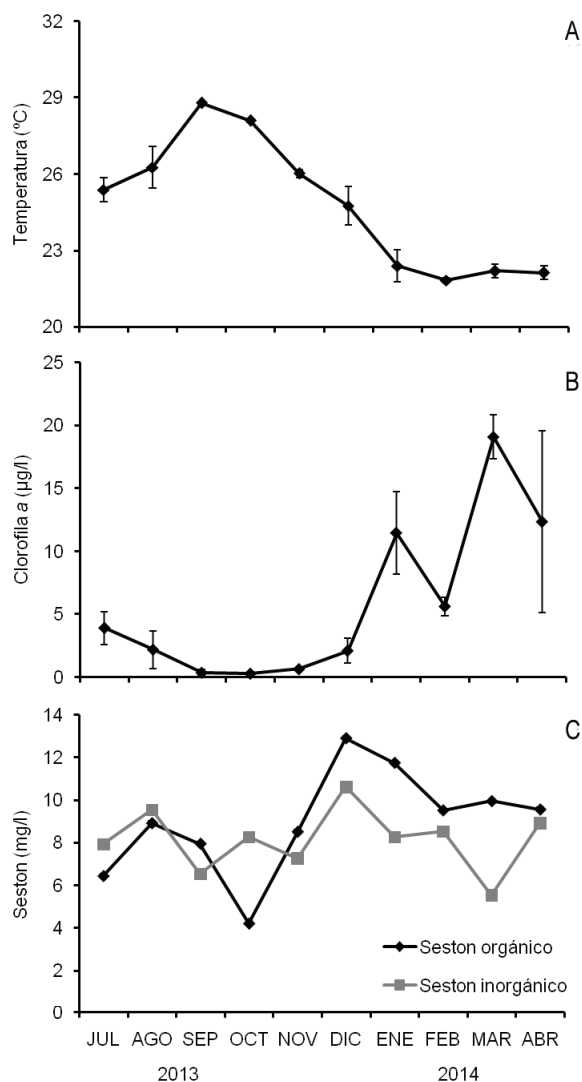


Figura 3. Variación mensual de la temperatura (A), clorofila a (B) y seston (C), en la ensenada La Fragata, golfo de Cariaco-Venezuela.

temperatura (3A). Se observaron valores mínimos durante los primeros meses de estudio, con los menores valores entre septiembre y octubre de 2013 ($0,36 \pm 0,25$ y $0,28 \pm 0,21 \mu\text{g/l}$ respectivamente). Mientras que los máximos incrementos se registraron en marzo de 2014 ($19,08 \pm 3,27 \mu\text{g/l}$), para descender ligeramente en abril de 2014 ($12,35 \pm 1,75 \mu\text{g/l}$). No obstante, a pesar del descenso brusco que se produjo en este mes (Figura 3B), los valores se mantuvieron altos ($\geq 10 \mu\text{g/l}$).

Las fracciones orgánicas e inorgánicas que conforman el material particulado suspendido en la columna de agua, fluctuaron ampliamente durante todo el periodo de estudio (Figura 3C). Los niveles de seston inorgánico y orgánico mostraron sus mayores valores en diciembre de 2013 ($10,62 \pm 0,11 \text{ mg/l}$ y $12,89 \pm 0,11 \text{ mg/l}$, respectivamente), mientras que los menores niveles se encontraron en marzo de 2014 para la fracción inorgánica ($5,52 \pm 0,1 \text{ mg/l}$) y en el mes de octubre de 2013, para el seston orgánico ($4,23 \pm 0,1 \text{ mg/l}$). De acuerdo a Ferraz-Reyes (1987), los patrones inversos de la temperatura y clorofila a son resultados de los cambios estacionales que se producen como consecuencia de la surgencia costera, que anualmente ocurre en el golfo de Cariaco.

Índices de Condición

Los índices de condición IC1 e IC2 presentaron un comportamiento similar (Figuras 4A y 4B), debido esencialmente a que comparan variables similares (biomasa fresca y seca). Ambos índices mostraron diferencias mensuales (KW = 389,6; $P \leq 0,05$ y KW = 408,2; $P \leq 0,05$ respectivamente). Los menores índices se observaron en noviembre de 2013 y enero de 2014 (IC1 = $34,19 \pm 7,88 \%$ e IC2 = $4,60 \pm 2,84 \%$; IC1 = $36,49 \pm 10,3 \%$ e IC2 = $6,90 \pm 1,73 \%$, respectivamente); mientras que los mayores valores se presentaron en agosto de 2013 y marzo de 2014 (IC1 = $62,25 \pm 19,31 \%$ e IC2 = $12,14 \pm 3,95 \%$; IC1 = $95,03 \pm 4,19 \%$ e IC2 = $23,47 \pm 3,15 \%$, respectivamente), con un ligero aumento en diciembre de 2013 para luego descender abruptamente en abril (IC1 = $68,71 \pm 13,8 \%$ e IC2 = $18,54 \pm 7,54 \%$).

Los índices de condición constituyen herramientas eficientes que permiten determinar el estado fisiológico de los bivalvos, debido a que proporcionan información sobre la época adecuada de cosecha (Orban *et al.* 2002, Sasikumar y Krishnakumar 2011).

En individuos *P. perna* sexualmente maduros, las gónadas ocupan entre el 50 – 60 % de los tejidos blandos (Acosta *et al.* 2006); es por ello, que el uso de los índices IC1 y IC2 (comparan la biomasa fresca y seca de los tejidos blandos con la biomasa de la concha) fueron los más

apropiados para estimar la pérdida y ganancia de biomasa, ya que la variabilidad está asociada a la actividad reproductiva de la especie. Al producirse la pérdida de gametos, ocurre un descenso brusco de la biomasa; mientras que los valores más altos de biomasa se relacionaron con los periodos de madurez, evidenciando que la gónada ejerce una marcada influencia sobre los índices de condición y rendimiento de la carne en individuos *P. perna*.

La variabilidad de los índices IC1 e IC2 ha sido observada en estudios anteriores realizados con *P. perna* y otros moluscos bivalvos (*Arca zebra*), en el nororiente del país; de igual forma asociados con el comportamiento reproductivo (madurez y desove) y con factores ambientales como la temperatura y disponibilidad de alimento (Acosta *et al.* 2006, Villarroel *et al.* 2016).

Los índices de condición IC3 e IC4 (Figuras 4C y 4D), también presentaron diferencias mensuales (KW = 454,51; $P \leq 0,05$ y KW = 455,12; $P \leq 0,05$), con un comportamiento parecido a los dos

índices anteriores. En octubre de 2013 se obtuvieron los menores índices (IC3 = $3,46 \pm 1,17$ % e IC4 = $0,42 \pm 0,19$ %) y sus incrementos se registraron en agosto de 2013 y marzo de 2014 (IC3 = $7,19 \pm 2,37$ % e IC4 = $1,36 \pm 0,54$ %; IC3 = $18,82 \pm 3,73$ % e IC4 = $4,56 \pm 1,03$ %, respectivamente). En abril de 2014 se produjo una caída brusca de ambos índices (IC3 = $14,88 \pm 3,51$ % e IC4 = $3,67 \pm 1,71$ %).

Los índices de condición IC3 e IC4 comparan la biomasa fresca y seca de los tejidos con la longitud total de los organismos, lo que permite estimar de igual forma la época de cosecha, al reflejar la condición, cantidad de tejido y una talla comercial adecuada para el consumo de los mejillones. Los resultados obtenidos en este estudio permiten sugerir, que para el manejo del cultivo de *P. perna*, el empleo de alguno de los dos primeros índices (IC1 e IC2) que implican la variabilidad del tejido, en conjunto con uno de los dos últimos (IC3 e IC4), asociados con la longitud de la concha, permitirá estimar los

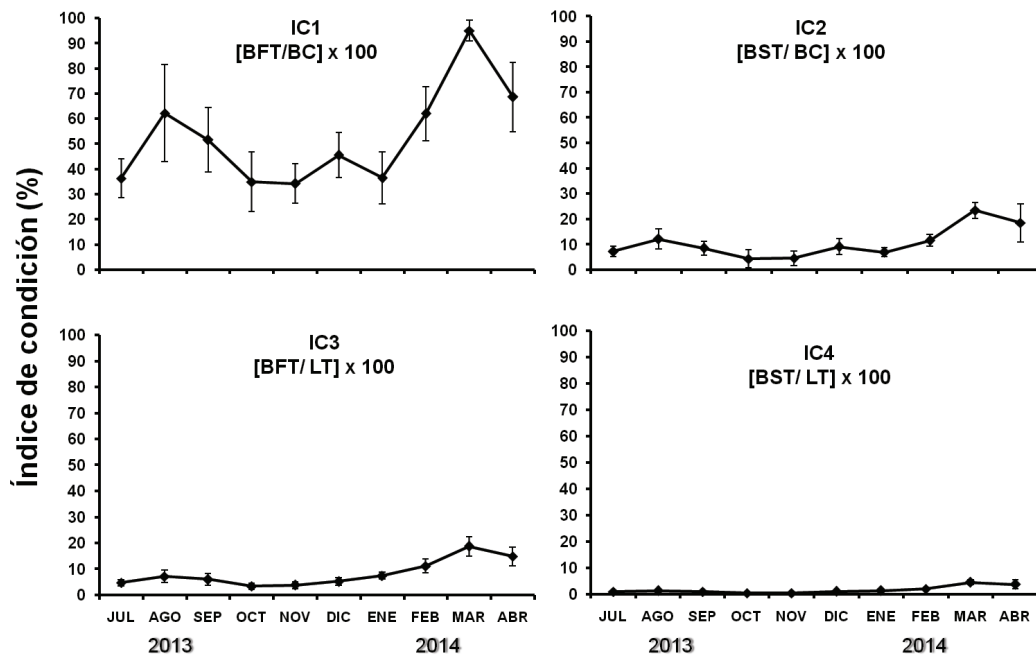


Figura 4. Variación mensual de los diferentes índices de condición IC1 (A), IC2 (B), IC3 (C) E IC4 (D), analizados en *Perna perna* cultivado en la ensenada La Fragata, golfo de Cariaco-Venezuela. BFT: Biomasa fresca de los tejidos; BST: Biomasa seca de los tejidos; BC: Biomasa de la concha. LT: Longitud total.

aspectos ecofisiológicos (producción de biomasa y desove) y económicos (cosecha).

Mercado-Silva (2005), señala que el empleo de los índices que involucren la biomasa seca de los tejidos, para hacer una estimación certera de la condición de mejillón, es lo más apropiado, puesto que la eliminación de agua durante la deshidratación de los tejidos, ayuda a valorar la disponibilidad de biomoléculas y nutrientes para consumo. No obstante, se ha reportado que el contenido de agua en los tejidos blandos no ejerce influencia significativa en el comportamiento de los índices, por lo que el acuicultor puede emplear aquellos que involucren la biomasa fresca de los tejidos (IC1 e IC3), a fin de ahorrar el tiempo y costo de la deshidratación (Galvao *et al.* 2015).

Los máximos índices de condición registrados en La Fragata, se obtuvieron a los nueve meses de estudio, lo que difiere de lo reportado por Acosta *et al.* (2006) para la misma especie en la ensenada de Turpialito; estos investigadores observaron los mayores registros en el IC1 a los 5 meses de cultivo ($39,98 \pm 5,33 \%$); no obstante, en este estudio se reportaron valores superiores ($95,03 \pm 4,18 \%$), en un tiempo mayor de cultivo. Esta diferencia, podría estar asociada con las tallas de los organismos al inicio del cultivo y con la disponibilidad de alimento en cada zona. La biomasa fitoplanctónica registrada en este estudio ($12 \mu\text{g/ml}$), fue superior a los $8 \mu\text{g/ml}$ reportados en la ensenada de Turpialito (Acosta *et al.* 2006); lo anterior, pudo promover las diferencias entre ambos ambientes de cultivo y sobre los índices de condición.

Índice de rendimiento

El índice de rendimiento presentó un incremento significativo ($KW = 389,57; P \leq 0,05$) en agosto ($38,37 \pm 6,17 \%$), para luego descender progresivamente hasta noviembre, donde alcanza su mínimo valor ($25,48 \pm 4,38 \%$); este comportamiento fue muy similar al de los índices IC1 e IC2. El rendimiento de la carne alcanzó su máximo valor en marzo ($48,72 \pm 2,93 \%$), para luego descender ligeramente en abril (Figura 5).

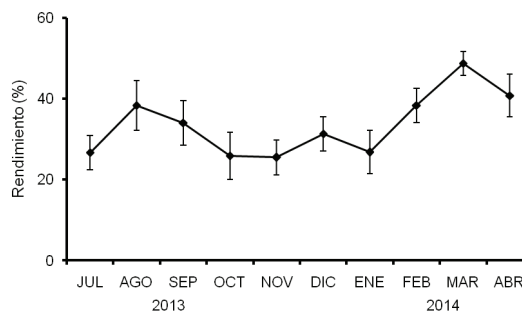


Figura 5. Variación mensual del índice de rendimiento del mejillón *Perna perna* cultivado en la ensenada La Fragata, golfo de Cariaco - Venezuela.

Relación de los factores ambientales con los índices de condición

Los diferentes índices de condición estudiados, conjuntamente con el índice de rendimiento de la carne, presentaron una asociación positiva con la clorofila *a*, con un porcentaje de varianza acumulada de 81,85 %; lo anterior indica el efecto modulador de este parámetro sobre dichos índices. Contrario a lo anterior, se estableció una asociación negativa entre los diferentes índices, la temperatura y el seston inorgánico (Figura 6).

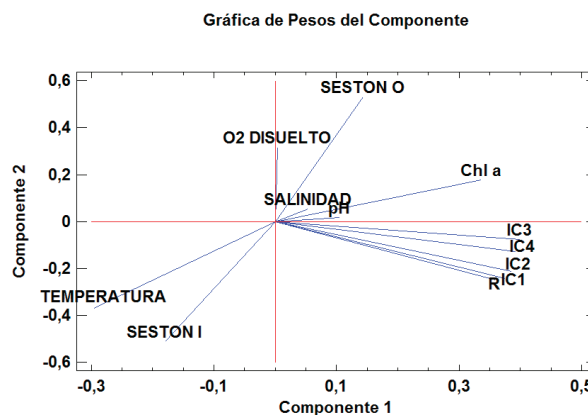


Figura 6. Proyección ortogonal de los componentes principales de la relación de los índices de condición y las variables ambientales, durante el cultivo de *Perna perna* en la ensenada La Fragata. Chl a: Clorofila *a*; SESTON O: seston orgánico; SESTON I: Seston inorgánico.

En el nororiente de Venezuela, los periodos de mayor producción de biomasa para *Perna perna*, *Lyropecten nodosus*, *Pinctada imbricata* y *Arca zebra*, se han asociado de manera positiva con la alta disponibilidad de alimento (Prieto *et al.* 1999, Lodeiros *et al.* 2002, Freitas *et al.* 2003, Acosta *et al.* 2006, 2009), lo que evidencia la importancia de este factor ambiental, en la producción de tejido somático y reproductivo en *P. perna*.

En este estudio, los aumentos del índice de condición se registraron entre marzo y junio, periodo que coincide con altos valores de clorofila *a* y seston total en el área, asociados al enriquecimiento de las aguas como consecuencia de la surgencia, esta última influenciada por los vientos alisios que originan bajas temperaturas y altas concentraciones de nutrientes y fitoplancton en la columna de agua, que finalmente, propician una elevada producción primaria (Ferraz-Reyes 1987, Lodeiros y Himmelman 2000).

CONCLUSIONES

Los mayores valores de talla, biomasa y rendimiento de tejido de *P. perna*, se obtienen en el mes de marzo, por lo que se considera la época de cosecha más favorable para su comercialización.

Los índices para manejar el cultivo de *P. perna* dentro del golfo, son el IC2 (biomasa seca de tejidos/biomasa de concha x 100) e IC4 (biomasa seca de tejidos/ longitud total x 100).

La biomasa fitoplanctónica, estimada en clorofila *a*, fue el principal factor ambiental que moduló el comportamiento de los diferentes índices de condición y rendimiento.

LITERATURA CITADA

- Acosta, V; Prieto, A. 2008. Producción secundaria de una población de *Perna perna* (Bivalvia: Mytilidae) en condiciones de cultivo suspendido. *Interciencia* 33(9):687-692.
- Acosta, V; Prieto, A; Lodeiros, C. 2006. Índice de condición de los mejillones *Perna perna* y *Perna viridis* (Bivalvia: Mytilidae) bajo un sistema suspendido de cultivo en la ensenada de Turpialito, Golfo de Cariaco, Venezuela. *Zootecnia Tropical* 24(2):177-192.
- Acosta, V; Glem, E; Natera, Y; Urbano, T; Himmelman, J; Rey-Méndez, M; Lodeiros, C. 2009. Differential growth of the mussels *Perna perna* and *Perna viridis* (Bivalvia: Mytilidae) in suspended culture in the Gulf of Cariaco, Venezuela. *Journal of the World Aquaculture Society* 40(2):226-235.
- Acosta, V; Natera, Y; Lodeiros, C; Freitas, L; Vásquez, A. 2010. Biochemical components of the tissues of *Perna perna* and *P. viridis* (Linneo, 1758) (Bivalvia: Mytilidae), in relation to the growth under conditions of suspended cultivation. *Latin american journal of aquatic research* 38(1):37-46.
- Arrieché, D; Licet, B; García, N; Lodeiros, C; Prieto, A. 2002. Índice de condición, gonádico y de rendimiento del mejillón marrón *Perna perna* (Bivalvia: Mytilidae), del Morro de Guarapo, Venezuela. *Interciencia* 27(11):613-619.
- Abdul Rahim, A; Idris, MH; Kamal, AH; Wong, S; Arshad, A. 2012. Analysis of Condition Index in *Polymesoda expansa* (Mousson 1849). *Pakistan Journal of Biological Sciences* 15(13):629-634.
- Davenport, J; Chen, X. 1987. A comparison of methods for the assessment of condition in the mussel (*Mytilusedulis* L.). *Journal of Molluscan Studies* 53:293-297.
- Ferraz-Reyes, E. 1987. Productividad primaria del Golfo de Cariaco Venezuela. *Boletín del Instituto Oceanográfico de la Universidad de Oriente* 26:97-110.
- Freitas, L; Lodeiros, C; Narváez, N; Estrella, G; Babarro, J. 2003. Growth and survival of the scallop *Lyropecten (Nodypecten) nodosus* (L. 1758) in suspended culture in the Cariaco Gulf (Venezuela) during a non-upwelling period. *Aquaculture Research* 34(9):709-718.
- Galvao, P; Longo, R; Machado-Torres, J; Malm, O. 2015. Estimating the potential production of the brown mussel *Perna perna* (Linnaeus, 1758) reared in three tropical bays by different methods of condition indices (en línea). *Journal of Marine Biology* 1-11. Consultado 24 jul. 2017. Disponible en <http://dx.doi.org/10.1155/2015/948053>

- Hickman, R; Illingworth, J. 1980. Condition cycle of the green-lipped mussel *Perna canaliculus* in New Zealand. *Marine Biology* 60(1):27-38.
- Kagley, A; Snider, R; Krishnakumar, P; Casillas, E. 2003. Assessment of seasonal variability of cytochemical responses to contaminant exposure in the blue mussel *Mytilusedulis* (complex). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 44:43-52.
- Lodeiros, C; Himmelman, J. 2000. Identification of factors affecting growth and survival of the tropical scallop *Euvola (Pecten) ziczac* in suspended culture in the Golfo de Cariaco, Venezuela. *Aquaculture* 182:91-114.
- Lodeiros, C; Pico, D; Prieto, A; Narváez, N; Guerra, A. 2002. Growth and survival of the pearl oyster *Pinctada imbricata* (Röding, 1758) in suspended and bottom culture in the Golfo de Cariaco, Venezuela. *Aquaculture International* 10(4):327– 338.
- Lucas, A; Beninger, P. 1985. The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture* 44:187-200.
- Martin, M; Ichikawa, G; Goetzl, J; Reyes, M; Stephenson, M. 1984. Relationships between physiological stress and trace toxic substances in the bay mussel, *Mytilusedulis*, from San Francisco Bay, California. *Marine Environmental Research* 11(2):91-110.
- Mercado-Silva, N. 2005. Condition index of the eastern oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791) in Sapelo island Georgia-effects of site, position on bed and pea crab parasitism. *Journal of Shellfish Research* 24(1):121-126.
- Meryem, Y; Sedat, K; İsmihan, K; Recep, Ö; Bora, E. 2012. Meat Yield, Condition Index, and Biochemical Composition of Mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) in Sinop, South of the Black Sea. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 21(3):198-205.
- Narváez, M; Freitas, L; Guevara, M; Guderley, H; Mendoza, J; Lodeiros, C; Salazar, G. 2008. Food availability and reproduction affects lipid and fatty acid composition of the brown mussel, *Perna perna*, raised in suspension culture. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B. Biochemistry and Molecular Biology* 149(2):293-302
- Nascimento, I; Pereira, S. 1980. Changes in the condition index for mangrove oyster (*Crassostrea rhizophorae*) from Todos os Santos Bay, Salvador, Brazil. *Aquaculture* 20(1):9–15.
- Orban, E; Di Lena, G; Navigato, T; Casini, I; Marzetti, A; Caproni, R. 2002. Seasonal changes in meat content, condition index and chemical composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) cultured in two different Italian sites. *Food Chemical* 77:57–65.
- Prieto, A; Vázquez, M; Ruiz, L. 1999. Energetic dynamics of growth in a mussel population *Perna perna* (Filibranchia: Mytilidae) in the northeast of Sucre state, Venezuela. *Revista de Biología Tropical* 47(3):399–410.
- Rivas, K; La Barbera, A; Carpio, M; Villarroel, E; Vásquez, E; Graziani, C. 2010. Caracterización de la Calidad del Agua en Áreas Potenciales para Acuicultura en la Costa Sur del Golfo de Cariaco, Estado Sucre, Venezuela. Annual Conference of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute (62, 2009, Cumaná, Venezuela). Marathon, USA, GCFI. 481-486.
- Sasikumar, G; Krishnakumar, P. 2011. Aquaculture planning for suspended bivalve farming systems: The integration of physiological response of green mussel with environmental variability in site selection. *Ecological Indicators* 11(2):734–740.
- Statpoint. 2006. Statgraphics® Centurion XV. Statistical exploration and modeling software (programa informático). Virginia, EUA. Statpoint Technologies, Inc.
- Strickland, J; Parsons, T. 1972. A practical handbook of seawater analysis. Bulletin 167. Ottawa, Canada. Fisheries Research Board of Canada. 310 p.
- Tirado, C; Macías, C; Villarías, R; Gaitero, J; Gomez, D; Martin, M; Rueda, J; Álamo, C; Manchado, M; Infante, C. 2005. Conclusiones derivadas del estudio sobre el potencial del

cultivo del mejillón *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 en Andalucía. Boletín del Instituto Español de Oceanografía 21:455-464.

Villarroel, J; Acosta, V; Arrieche, D. 2016. Condición fisiológica de una Población de *Arca zebra* (Bivalvia: Arcidae) del banco de Chacopata, Sucre, Venezuela. Revista de Biología Tropical 64(3):1-8.

Nota Técnica

Prevalencia y caracterización de aislamientos de *Gallibacterium anatis* en regiones avícolas colombianas durante el periodo 2013-2014

Carlos Viteri A.¹, José Muñoz P.², Luis Duque M.^{3*}

¹Ejercicio particular. ²Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (UDCA), Bogotá, Colombia. ³Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Villavicencio, Colombia. Correo Electrónico: lgduque@agrosavia.co

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia y caracterizar los aislamientos de *Gallibacterium anatis* en las regiones de Cundinamarca, Valle del Cauca y periferia de Barranquilla, importantes en la producción avícola colombiana. Se analizaron 214 historias clínicas recolectadas en dos laboratorios de diagnóstico, de las cuales 207 correspondían a aves de postura y las restantes fueron de reproductoras. En las zonas de reporte de los casos positivos, las granjas presentaron alta variabilidad en sus controles de bioseguridad. De acuerdo con los resultados obtenidos, el mayor número de casos positivos se concentró entre las semanas 21 a 50 de edad (80 %). De la totalidad de los casos reportados, 184 (85,98 %) fueron positivas al cultivo de senos nasales. La evaluación del número de aislamientos positivos distribuidos de acuerdo a la edad y al tipo de muestra, mostró que entre la semana 11 y 20 de los individuos estudiados, el 40 % de las muestras procesadas del bazo, resultaron positivas.

Palabras clave: gallinas ponedoras, producción de huevos, cría de aves de corral, enfermedades bacterianas.

Prevalence and characterization of *Gallibacterium anatis* isolates in Colombian poultry regions during the 2013-2014 period

ABSTRACT

The objective of this work was to determine the prevalence and characterize the isolates of *Gallibacterium anatis* in the Cundinamarca, Valle del Cauca and periphery of Barranquilla regions, important in colombian poultry production. 214 clinical histories collected in two diagnostic laboratories were analyzed, of which 207 corresponded to laying hens and the rest were breeding hen. In the areas with positive cases, the farms presented high variability in their biosafety controls. According to the results obtained, the greatest number of positive cases was concentrated between 21 to 50 weeks of age (80 %). Of all the cases reported, 184 (85.98 %) were positive for sinus culture. The evaluation of the number of positive isolates distributed according to age and type of sample, showed that between the 11th and 20th week of the studied individuals, 40 % of the processed spleen samples were positive.

Key words: laying hens, egg production, poultry farming, bacterial diseases.

INTRODUCCIÓN

Las patologías respiratorias forman parte de los principales problemas sanitarios y económicos en los sistemas avícolas de cría intensiva. Por otra parte, los rasgos genéticos pueden determinar la susceptibilidad a enfermedades o condicionar la respuesta a diferentes patógenos tales como virus, bacterias entre otros.

Dentro de los agentes bacterianos, *Gallibacterium anatis* (Ga) es considerado un patógeno secundario y su prevalencia es elevada. Este microorganismo da lugar a procesos septicémicos, que puede presentarse como una bacteriemia letal, de alta morbilidad y mortalidad, en la que ocurren afección respiratoria e infección crónica de órganos como hígado, ovario y bazo con una evidente baja de los parámetros zootécnicos (Morales *et al.* 2012).

El *Gallibacterium anatis* se clasifica en el grupo de la familia *Pastereuaceae* (Christensen *et al.* 2003), anteriormente denominado *Pasteurella anatis*, *Pasteurella aviar hemolítica-like*, o *Actinobacillus salpingitidis* (Castillo *et al.* 2014).

Tiene la capacidad de infectar diferentes especies de aves, como pavos, gansos y aves de postura. También se pueden ver afectadas otras especies como el ganado bovino y los porcinos (Singh *et al.* 2016). Aun cuando se dispone de una solución farmacológica para *G. anatis*, con base al uso de antibióticos, existen reportes que indican que puede ocurrir una recurrencia de infección (Bojesen *et al.* 2011, Singh *et al.* 2016).

Este organismo se ha aislado de aves sanas, por lo que se ha sugerido como habitante normal del tracto respiratorio superior (Bojesen *et al.* 2003). Sin embargo, también se ha aislado de aves enfermas con afección ovárica, peritonitis, pericarditis, lo que puede indicar que hay diferencias de patogenicidad de las cepas de *Gallibacterium anatis* y que su ubicación en el tracto respiratorio superior no está relacionada con la capacidad de expresión patogénica, que sí se evidencia cuando hay colonización del organismo en órganos internos como bazo, hígado, ovarios o corazón (Mirle *et al.* 1991).

El potencial infeccioso de este organismo ha sido ampliamente discutido (Osuna *et al.* 2017). De

igual forma, se ha realizado el aislamiento y la caracterización molecular de *Gallibacterium anatis* biovar hemolítica a partir de infecciones respiratorias, salpingitis, peritonitis en muestras de aves de engorde (Elbestawy *et al.* 2018). No obstante, estos autores destacan la necesidad de estudios adicionales para dilucidar el rol de *G. anatis* en los problemas de infección respiratoria y disminución de la producción de huevos en aves.

Dentro de los problemas reportados por la presencia de *G. anatis* en pollos, se observan diversos signos y lesiones, tales como problemas respiratorios, necrosis en el hígado, peritonitis, salpingitis, folículos hemorrágicos y disminución en la producción de huevos (Jhonson *et al.* 2013). En las aves de corral, se han observado infecciones de *G. anatis* asociadas con otros patógenos como *Escherichia coli* (El-Adawy *et al.* 2018).

La infección por *Gallibacterium* es considerada causante de una enfermedad emergente, a esto se les suma su resistencia a diferentes fármacos, lo que ocasiona brotes con una alta mortalidad no solamente en aves de corral sino también en aves de compañía (Singh *et al.* 2016).

Con base a lo anterior y considerando que en Colombia existen 6.299 predios avícolas (3.655 predios de engorde, 162 predios de levante de aves, 2.316 predios de aves de postura), de acuerdo al censo avícola (ICA 2017), es evidente la gran importancia que *G. anatis* puede tener dentro del ámbito productivo y sanitario del país. No obstante, no se conoce la incidencia y prevalencia de este microorganismo en el ámbito avícola colombiano.

Considerando la implicación de *G. anatis* en el desarrollo de distintas enfermedades aviares y la baja disponibilidad de trabajos dedicados a su estudio, el objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia y caracterizar los aislamientos de *G. anatis* en la población de gallinas comerciales y reproductoras durante el periodo marzo 2013 - marzo 2014, en tres zonas avícolas colombianas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de tipo transversal retrospectivo en el que se analizaron 214 historias clínicas de casos positivos para *G. anatis*, durante

el período comprendido entre marzo de 2013 y marzo de 2014, provenientes de dos laboratorios de diagnóstico, ubicados en las zonas sur y central del país. De los 214 casos, 207 correspondieron a ponedoras comerciales y el resto a aves reproductoras.

Para la identificación de *G. anatis* en los aislados bacterianos, los laboratorios utilizaron los siguientes criterios: no móviles de forma redondeada o pleomórfica, colonias β-hemolíticas,

grisáceas, translúcidas no transparentes en su periferia, brillantes y de un diámetro entre 1-2 mm, catalasa y oxidasa negativas.

Para el análisis, los reportes positivos fueron agrupados en 3 regiones geográficas (Departamentos de Cundinamarca, Valle del Cauca y periferia de Barranquilla).

La subdivisión de estas regiones geográficas se presenta en el Cuadro 1 y las figuras 1A, 1B, 1C, y 1D.

Cuadro 1. Regiones geográficas y zonas de origen de los casos positivos

Zona	Región
1	Oriente Cundinamarca, incluye Fómeque, Choachi, Ubaque, Sanamé.
2	Occidente Cundinamarca, comprende Facatativa, La Vega, Supata.
3	Sur Cundinamarca, incluye Mesitas, La Mesa, Fusagasugá.
4	Norte Cundinamarca, comprende Zipaquira, Tenza.
5	Norte Valle del Cauca, incluye Buga, San Pedro, Tulua, Cartago
6	Sur Valle del Cauca, comprende Jamundi, Caloto
7	Periféricos, incluye Barranquilla.

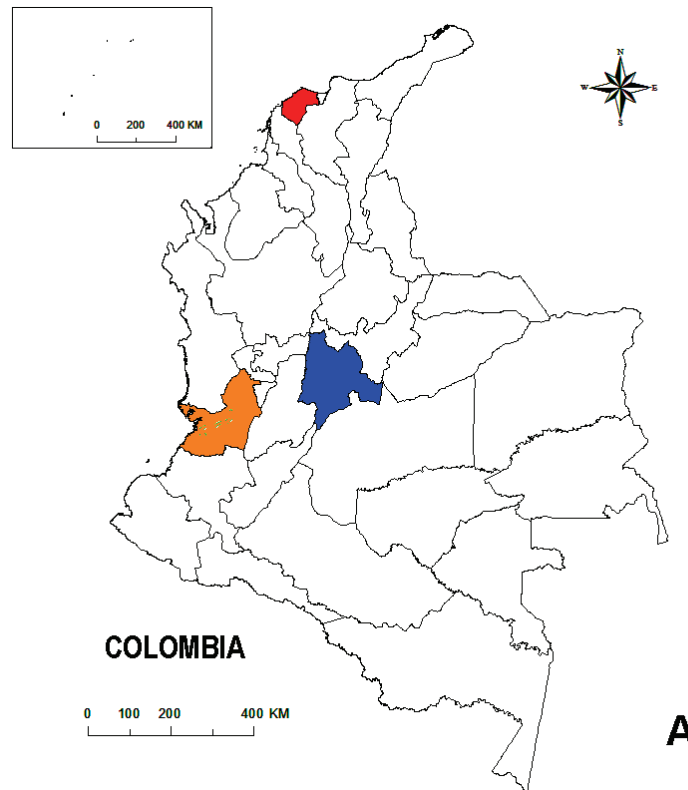


Figura 1A. Agrupación de casos positivos por regiones geográficas.

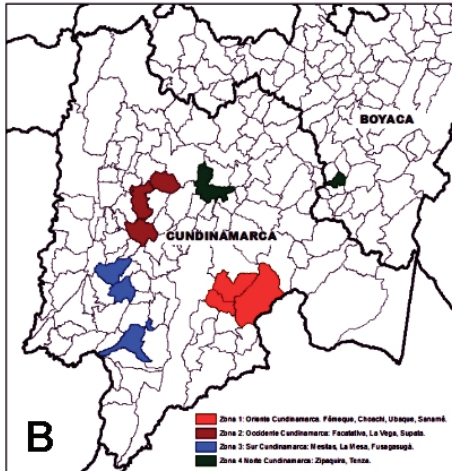


Figura 1B. Zonas 1,2,3,4.

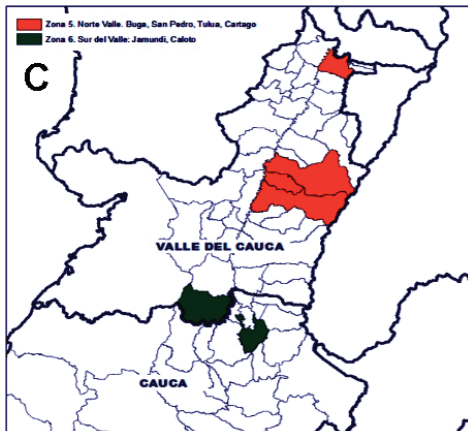


Figura 1C. Zonas 5,6.

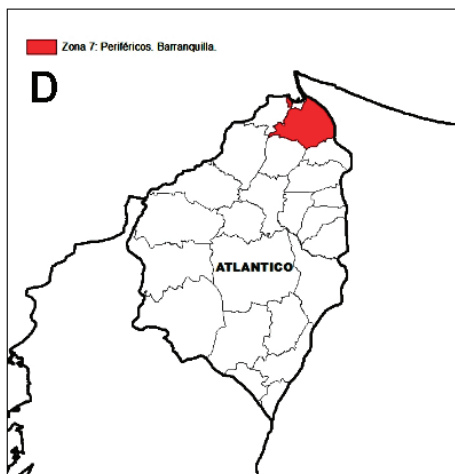


Figura 1D. Zona 7.

Se determinaron las variables: porcentaje de casos positivos en cada zona estudiada, promedio de casos positivos, aislamientos de *Gallibacterium anatis* de acuerdo a los grupos de edad, porcentaje de aislamientos de acuerdo al tipo de muestra para cultivo y número de aislamientos positivos distribuidos de acuerdo a la edad y al tipo de muestra. De igual forma, se evaluó la distribución de los casos positivos en el tiempo.

Para evaluar el número de aislamientos de acuerdo a los grupos de edad, los datos fueron distribuidos en 6 grupos, por etapa productiva y edad, tal como se muestra en el Cuadro 2. Para obtener el porcentaje de aislamientos de acuerdo al tipo de muestra para cultivo, se agruparon los casos positivos detectados en el tracto respiratorio superior y los detectados en otros órganos internos.

Cuadro 2. Distribución de las poblaciones de aves estudiadas por etapa productiva y grupos de edad

Etapa productiva	Semanas
Cría	0-10
Levante	11-20
Prod 1	21-30
Prod 2	31-40
Prod 3	41-50
Prod 4	51-60
Prod 5	61-70
Prod 6	>71
N.R	N.R

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Porcentaje de casos positivos por zona geográfica

De los 214 casos positivos para *G. anatis*, el 36,37 % correspondió a la zona 1, mientras que el 28,21 % fue para la zona 5. El 64,15 % de estos reportes positivos, provienen de zonas de alta concentración avícola, con grados de bioseguridad variables (Figura 2).

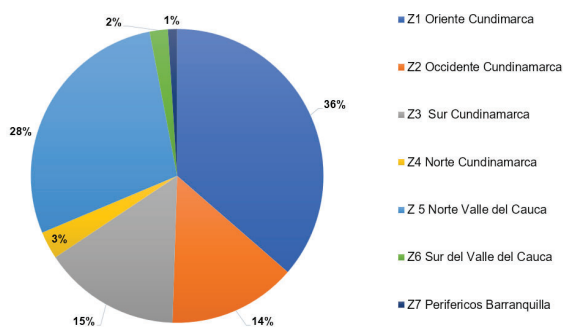


Figura 2. Aislamientos de *Gallibacterium anatis* por zona geográfica

Distribución de los casos positivos en el tiempo

La curva epidémica evidenció que el 54,11 % de los casos reportados se presentaron en el periodo de enero - junio de 2014 (Figura 3). Es probable que un factor disparador haya sido el clima, de acuerdo a las condiciones de explotación de las aves en las zonas de mayor concentración avícola.

Conforme al reporte del clima, en las zonas central y sur de la Regiones Andina y Pacífica, se registraron las mayores precipitaciones en el mes de enero de 2014, comparado a los registros históricos (IDEAM 2014). No obstante, las condiciones de alta temperatura en los meses de febrero y marzo son un factor determinante de estrés que contribuye a la presentación de cualquier entidad infecciosa. La curva epidémica, sugiere un patrón de transmisión de fuente común continua (Navas 2010). El promedio de casos positivos fue de 8,9.

Aislamientos de *Gallibacterium anatis* de acuerdo a los grupos de edad y etapa productiva

Los hallazgos muestran un mayor número de casos positivos en las fases de producción 1, 2 y 3, es decir en el periodo comprendido entre las semanas 21 a 50. La literatura refiere un periodo comprendido entre las semanas 22 a 34 (Campogarrido 2002). Los datos evidenciaron que el 50 % de los casos reportados, se encuentra entre los periodos de producción 1 y 2; de lo anterior se infiere que el estrés de producción promueve una mayor

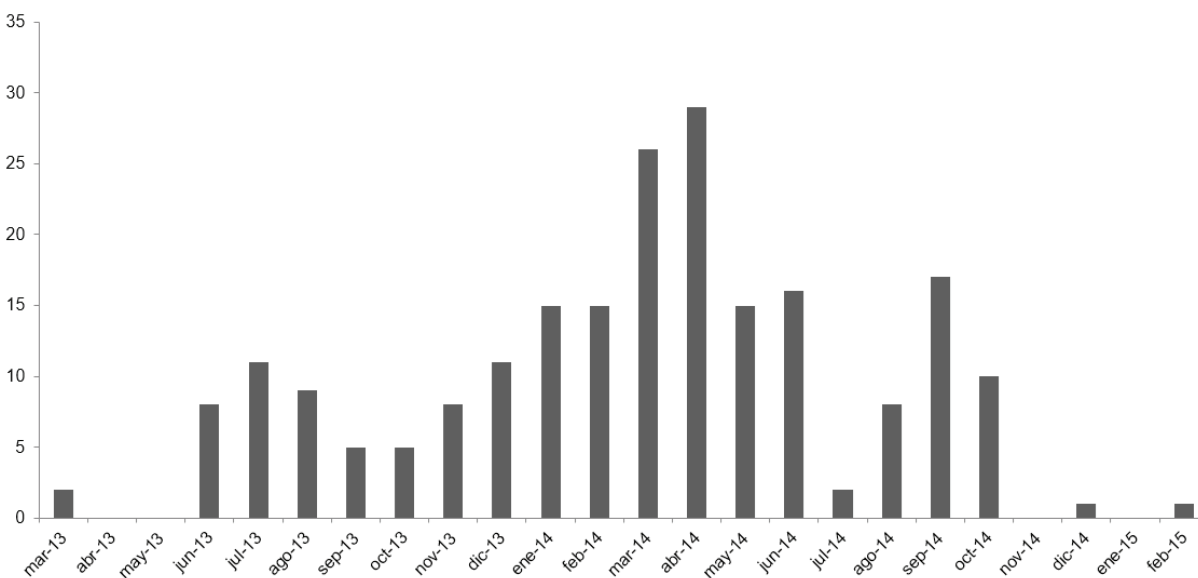


Figura 3. Distribución de los casos positivos de *Gallibacterium anatis* en el tiempo

susceptibilidad para la colonización de organismos de tipo infeccioso (Cuadro 3; Figura 4).

Cuadro 3. Aislamientos de *Gallibacterium anatis* de acuerdo a los grupos de edad

Etapa productiva	Semanas	A (#)	A (%)
Cría	0-10	12	6
Levante	11-20	30	14
Prod 1	21-30	48	22
Prod 2	31-40	56	26
Prod 3	41-50	26	12
Prod 4	51-60	16	7
Prod 5	61-70	10	5
Prod 6	>71	4	2
N.R	N.R	12	6

A (#): número de aislamientos. A (%): porcentaje de aislamientos

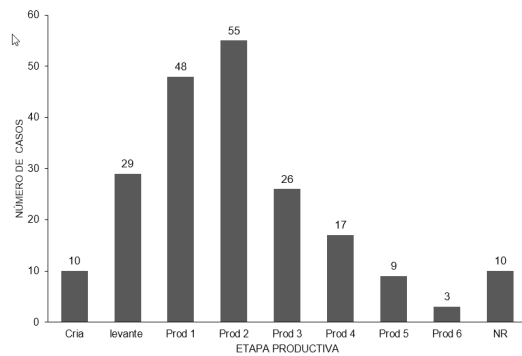


Figura 4. Casos positivos de *Gallibacterium anatis* distribuidos por etapa productiva

De igual forma se observó que el mayor índice de casos positivos fue en ponedoras comerciales ($n = 206$) en comparación con las reproductoras ($n = 8$).

Porcentaje de aislamiento de acuerdo al tipo de muestra para cultivo

De los 214 casos reportados de *G. anatis*, se evidenció que 183 muestras procedían de los senos nasales, 184 muestras provenían de tráquea, 47 a partir de hígado, 37 a partir de ovario y 5 de bazo. Lo anterior indica que el 86 % de los aislamientos

resultó de las vías aéreas superiores y el 42 % de órganos internos (Figura 5).

El alto índice de aislamiento en muestras provenientes de vías aéreas superiores es consistente con la condición de *G. anatis* como habitante normal de la mucosa respiratoria. Por otra parte, el 42 % de los aislamientos positivos obtenidos a partir de muestras provenientes de órganos internos, demuestra la capacidad de colonización y migración del microorganismo hacia hígado, ovario, bazo, pericardio, donde es el principal agente promotor de alteraciones orgánicas y de parámetros productivos.

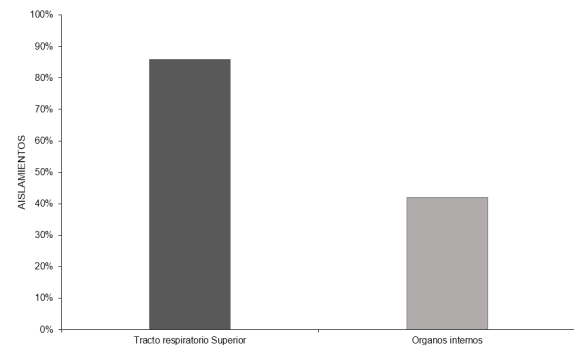


Figura 5. Aislamientos de *Gallibacterium anatis* de acuerdo al tipo de muestra para cultivo

Número de aislamientos positivos distribuidos de acuerdo a la edad y al tipo de muestra

Al evaluar la relación entre la edad, número y lugar de aislamiento de *G. anatis*, se confirmó que durante las fases de vida tempranas de las aves, la casuística de aislamiento puede ser elevada para vías respiratorias altas y puede existir una correlación baja entre su hallazgo en estas vías y en órganos internos como hígado y ovario (Figura 6).

Al establecer la relación entre el sitio de aislamiento y la etapa productiva, se evidenció que de la totalidad de las muestras tomadas de bazo, el 40 % fue positivo para *G. anatis* durante el periodo entre las 11 a 20 semanas, el 20 % en el periodo de las 31 a 40 semanas y un 30 % en una edad no determinada. De todas las muestras tomadas de ovario, el 35 % resultó positivo a *G. anatis* en el periodo de 21 a 30 semanas, mientras que un

30 % en el periodo de 31 a 40 semanas subsecuente. En cuanto a las muestras de hígado, el 25 % de las mismas resultaron positivas en el periodo comprendido entre las 21 a 30 semanas.

Aunque en este estudio, no se determinó la asociación de factores desencadenantes para la presentación de la enfermedad causada por *G. anatis*, queda para el análisis a futuro la posibilidad de que elementos como la temperatura, humedad o cualquier otro factor climático durante ciertas épocas del año, aunado a factores de manejo como la densidad de aves y

bioseguridad, constituyan componentes de riesgo para la aparición de esta enfermedad.

Se requiere un mayor número de estudios de prevalencia de *G. anatis* durante las fases tempranas de cría y levante para determinar si es un organismo facultativo de vías aéreas altas o por el contrario es un agente primario capaz de producir cuadros de enfermedad.

De igual forma, deben establecerse estudios de carácter bioquímico que permitan definir la casuística por serovariedad o biogrupo así como de caracterización molecular a fin de determinar la epizootiología.

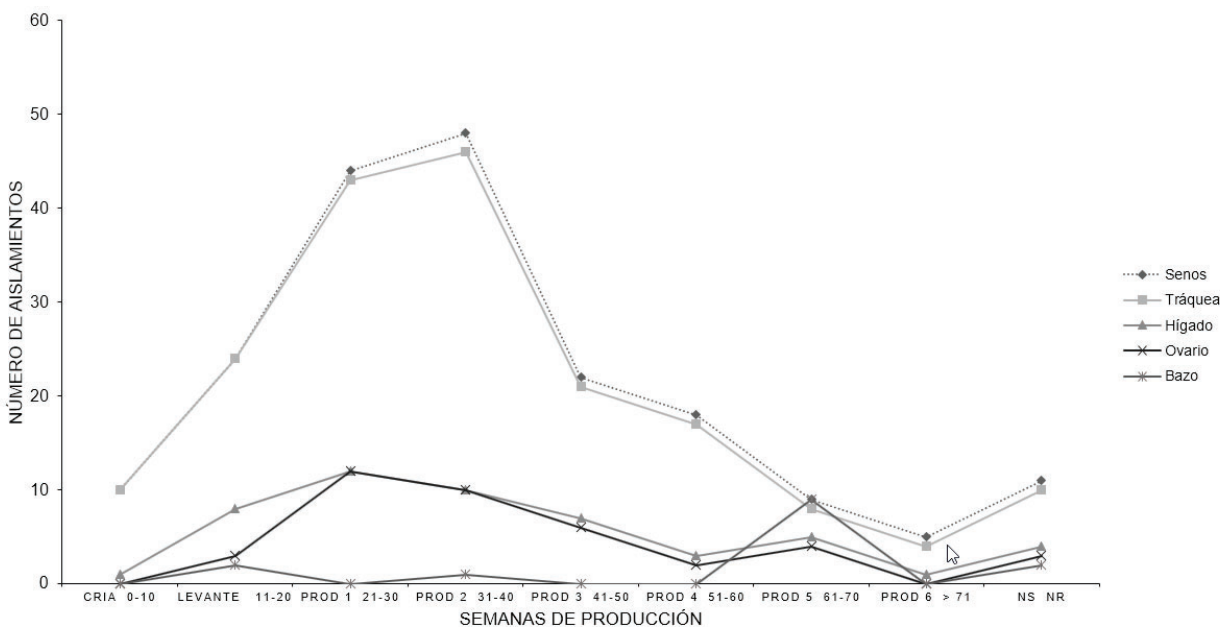


Figura 6. Aislamientos de *Gallibacterium anatis* distribuidos por edad y por tipo de muestra para cultivo

CONCLUSIONES

El mayor número de casos positivos para *G. anatis* se determinó en las zonas 1 y 5, que se corresponden al norte del Valle del Cauca y el oriente de Cundinamarca, donde existe una alta densidad de aves y condiciones variables de bioseguridad.

El periodo en el que se observó un mayor número de casos positivos de *G. anatis*, corresponde al

periodo comprendido entre las semanas 21 a 40, donde se inicia y mantiene el pico de producción, etapa crítica de producción. Lo anterior permite recomendar el establecimiento de medidas preventivas y de control que minimicen la aparición de factores predisponentes que permitan la colonización interna por este organismo.

El número de aislamientos de *G. anatis* en el ovario, resultó más alto que en otros órganos internos como el hígado. Lo anterior puede indicar que su presencia está relacionada con estado patológicos y pérdidas de producción.

LITERATURA CITADA

- Bojesen, A; Nielsen, S; Bisgaard, M. 2003. Prevalence and transmission of haemolytic *Gallibacterium* species in chicken production systems with different biosecurity levels. *Avian Pathology* 32(5):503–510.
- Bojesen, AM; Vazquez, ME; Robles, F; Gonzalez, C; Soriano, EV; Olsen, JE; Christensen, H. 2007. Specific identification of *Gallibacterium* by a PCR using primers targeting the 16S rRNA and 23S rRNA genes. *Veterinary microbiology* 123(1-3):262–268.
- Bojesen, AM; Vazquez, ME; Bager, RJ; Ifrah, D; Gonzalez, C; Aarestrup, FM. 2011. Antimicrobial susceptibility and tetracycline resistance determinant genotyping of *Gallibacterium anatis*. *Veterinary microbiology* 148(1):105-110.
- Campogarrido, MR; Vázquez, ME; González, CP; Sivanandan, V. 2002. Impacto de la *Pasteurella haemolítica* en parvadas comerciales. (Memoria). Convención Anual de la Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas (27, 2002, Puerto Vallarta, México). Puerto Vallarta, México. 380 p.
- Castillo, G; Koga, Y; Alvarado, A; Tinoco, R; Fernández, D. 2014. Aislamiento e Identificación Bioquímica de Cepas de *Pasteurella multocida* y *Gallibacterium anatis* en Aves de Producción con Signos Respiratorios (en línea). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 25(4):516-522. Consultado 08 feb. 2018. Disponible en <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v25i4.10812>
- Christensen, H; Bisgaard, M; Bojesen, AM; Mutters, R; Olsen, JE. 2003. Genetic relationships among strains of biovars of avian isolates classified as *Pasteurella haemolytica*, “*Actinobacillus salpingitidis*” or *Pasteurella anatis* with proposal of *Gallibacterium anatis* gen. nov., comb. nov. and description of additional genomospecies within *Gallibacterium* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53(1):275-287.
- El-Adawy, H; Bocklisch, H; Neubauer, H; Hafez, HM; Hotzel, H. 2018. Identification, differentiation and antibiotic susceptibility of *Gallibacterium* isolates from diseased poultry (en línea). *Irish Veterinary Journal* 71:5. Consultado 08 ene. 2018. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5799919/>
- Elbestawy, AR; Ellakany, HF; Abd El-Hamid, HS; Bekheet, AA; Mataried, NE; Nasr, SM; Amarin, NM. 2018. Isolation, characterization, and antibiotic sensitivity assessment of *Gallibacterium anatis* biovar haemolytica, from diseased Egyptian chicken flocks during the years 2013 and 2015 (en línea). *Poultry Science* 97(5):1519-1525. Consultado 08 ene. 2018. Disponible en <http://bit.ly/35E2wlp>
- ICA (Instituto Colombiano Agropecuario). 2017. Censo pecuario nacional (en línea). Censo aviar en Colombia. Consultado 10 feb. 2018. Disponible en <http://bit.ly/30669PO>
- IDEAM (Instituto de hidrología, meteorología y estudios ambientales). 2014. Tiempo y clima (en línea). Boletín mensual de predicción climática. Consultado 20 ene. 2018. Disponible en <http://bit.ly/307NqU7>
- Johnson, TJ; Danzeisen, JL; Trampel, D; Nolan, LK; Seemann, T; Bager, RJ; Bojesen, AM. 2013. Genome analysis and phylogenetic relatedness of *Gallibacterium anatis* strains from poultry (en línea). *PLoS One* 8(1):e54844. Consultado 08 feb. 2018. Disponible en <http://bit.ly/35E1VAb>
- Morales, H; Sanabria, M; Ardila, C; Vergara, G; Manjares, A; Puentes, A. 2012. Reporte de caso clínico de *Gallibacterium anatis* en una granja de colombiana de incubación SAS. *Plumazos* 41:20-25.
- Mirle C, Schoengarth M, Meinhart H, Olm U. 1991. Studies into incidence of *Pasteurella haemolytica* infections and their relevance to hens, with particular reference to diseases of

the egg-laying apparatus. *Monatshefte fuer Veterinaermedizin* 46(15):545–549.

Navas, A. 2010. Importancia de los sistemas silvo-pastoriles en la reducción del estrés calórico en sistemas de producción ganadera tropical (en línea). *Revista de Medicina Veterinaria* 19:113-122. Consultado 08 ene. 2018. Disponible en <http://bit.ly/2QHGES5>

Osuna, R; Molina, R; Munguía, J; Hernández, J; López, J; Acuña, M; Martínez, V; Robles, J; Icedo, J. 2017. Resistencia antimicrobiana de *Gallibacterium anatis* aisladas de gallinas

de postura comercial en Sonora, México (en línea). *Revista mexicana de ciencias pecuarias* 8(3):305-312. Consultado 08 feb. 2018. Disponible en <http://bit.ly/2QEefft>

Singh, S; Singh, B; Sinha, D; Kumar, V; Vadhana, P; Bhardwaj, M; Dubey, S. *Gallibacterium anatis*: an emerging pathogen of poultry birds and domiciled birds (en línea). *Journal of Veterinary Science and Technology* 7(3):1-7. Consultado 08 feb. 2018. Disponible en <http://bit.ly/35Gq88Q>

Nota Técnica

Avaliação da qualidade física e fisiológica de sementes de capim-Mombaça de diferentes procedências

Weudes Rodrigues Andrade¹, Andréia Márcia Santos Souza David¹, Eleuza Clarete Junqueira de Sales¹, Gabriel Santos de Souza David¹, Josiane Cantuária Figueiredo^{1*}, Flávio Pinto Monção¹, Edipo Alves Lacerda¹, Samantha Mariana Machado¹

¹Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Montes Claros – Unimontes, Campus Janaúba – MG, Brasil.
^{*}Correio Eletrônico: josycantuarua@yahoo.com.br

RESUMO

O uso de sementes de boa qualidade é um fator essencial para o estabelecimento das pastagens. O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade física e fisiológica de sementes de *Panicum maximum* cv. Mombaça, procedentes de diferentes empresas produtoras. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, constituído de três tratamentos (procedências), com cinco repetições. As sementes foram avaliadas quanto ao teor de água, qualidade física (pureza física e massa de mil sementes) e fisiológica (germinação, primeira contagem, índice de velocidade de germinação e tempo médio de germinação). Observou-se variação na qualidade física e fisiológica das sementes de capim-mombaça comercializadas no norte de Minas Gerais; Somente as sementes das empresas 1 e 2 atenderam aos padrões mínimos de pureza física e germinação necessários para a comercialização de sementes dessa espécie.

Palavras chave: *Panicum maximum* cv. Mombaça, germinação, pureza, qualidade de semente, degradação de pastagens, gramíneas forrageiras;

Evaluation of the physical and physiological quality of Mombasa grass seeds from different sources

ABSTRACT

The use of good quality seeds is an essential factor for pasture establishment. The objective of this study was to evaluate the physical and physiological quality of the seeds of *Panicum maximum* cv. Mombasa, coming from different producing companies. A completely randomized experimental design consisting of three treatments (provenances) was used, with five repetitions. The seeds were evaluated for water content, physical quality (physical purity and mass of a thousand seeds) and physiological (germination, first count, germination speed index and average germination time). The existence of variation in the physical and physiological quality of the Mombasa grass seeds marketed in the north of Minas Gerais was observed; only the seeds from companies 1 and 2 met the minimum standards of physical purity and germination required for the commercialization of that species seeds.

Key words: *Panicum max* cv. Mombasa, germination, purity, seed quality, pasture degradation, forage grasses.

Evaluación de la calidad física y fisiológica de semillas de pasto Mombasa de diferentes procedencias

RESUMEN

El uso de semillas de buena calidad es un factor esencial para el establecimiento de los pastos. El objetivo de este estudio fue evaluar la calidad física y fisiológica de las semillas de *Panicum maximum* cv. Mombasa, procedentes de diferentes empresas productoras. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado constituido por tres tratamientos (procedencias), con cinco repeticiones. Las semillas fueron evaluadas en cuanto al contenido de agua, calidad física (pureza física y masa de mil semillas) y fisiológica (germinación, primer conteo, índice de velocidad de germinación y tiempo medio de germinación). Se observó la existencia de variación en la calidad física y fisiológica de las semillas de pasto Mombasa comercializadas en el norte de Minas Gerais; únicamente las semillas procedentes de las empresas 1 y 2 cumplieron los estándares mínimos de pureza física y germinación requeridos para la comercialización de semillas de esa especie.

Palabras clave: *Panicum maximum* cv. Mombasa, germinación, pureza, calidad de semilla, degradación de pasturas, gramíneas forrajeras.

INTRODUÇÃO

A pecuária no Brasil baseia-se no uso de plantas forrageiras como principal fonte de nutrientes para os animais (Barbero *et al.* 2015, Sampaio *et al.* 2017). Isso é possível em função do grande avanço tecnológico sobre as áreas de pastagens tropicais cultivadas no país, principalmente a partir da década de 1970. E este, está associado à disponibilidade e a utilização de sementes de melhor qualidade, proporcionando a formação de pastos mais produtivos (Laura *et al.* 2009, Pariz *et al.* 2010, de Melo *et al.* 2016).

Segundo do Canto *et al.* (2012), as gramíneas pertencentes ao gênero *Panicum* têm merecido destaque na alimentação animal, principalmente, em função da boa adaptação a climas tropicais e possibilidade de cultivo em diferentes tipos de solos, sendo assim podem ser cultivadas em praticamente todo o país. Sua propagação é principalmente através de sementes.

As cultivares da espécie *Panicum maximum* Jacq são adaptadas a diferentes tipos de solos e clima tropicais, propagadas principalmente através de sementes, possuindo grande importância na produção de animais à pasto em sistemas intensivos (do Canto *et al.* 2012).

O capim-Mombaça é uma cultivar de *P. maximum*, selecionada por sua alta capacidade produtiva de forragem e lâminas foliares (Jank *et al.* 2008). Devido às suas características produtivas há uma grande demanda de sementes dessa cultivar, por parte dos produtores, para formação de pastagens, o que acaba gerando um amplo mercado de sementes, abastecido por inúmeras empresas, de diferentes regiões, e que podem produzir sementes com diferentes padrões de qualidade.

As sementes correspondem apenas com 6 % do custo total durante a formação de pastagens, entretanto, no momento da compra, o produtor normalmente acaba preferindo a de menor custo, sem se preocupar com os padrões de qualidade (Ohlson 2010). A utilização de sementes de baixa qualidade é considerada um dos fatores que causa a degradação das pastagens, principalmente sementes que possuem um baixo valor cultural, que faz com que o produtor sem o conhecimento cabe semeando uma quantidade abaixo do ideal, gerando assim uma baixa densidade de plantas por área, favorecendo a instalação de plantas invasoras (Peron e Evangelista 2004).

A qualidade das sementes pode ser caracterizada pelos aspectos genéticos, físicos, sanitários e

fisiológicos, que se torna de fundamental importância para propagação de qualquer espécie vegetal e tendo assim influência direta no estabelecimento e no potencial produtivo de uma cultura (Marcos Filho 2015). A qualidade física e fisiológica das sementes é determinada pelo ambiente durante a produção, a colheita, beneficiamento e armazenamento (Laura *et al.* 2009). Portanto os métodos de produção, assim como as regiões de origem, podem interferir diretamente na qualidade final das sementes que são repassadas para os produtores.

Com base no acima, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade física e fisiológica de sementes de capim-Mombaça, procedentes de diferentes empresas produtoras situadas no norte de Minas Gerais.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Montes Claros (**DCA/UNIMONTES**), em Janaúba, Minas Gerais. Utilizaram-se sementes de capim-Mombaça, safra de 2017, procedentes de três empresas estabelecidas na região norte de Minas Gerais.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado constituído de três tratamentos (procedências), com cinco repetições por tratamento.

Os parâmetros avaliados foram: análise de pureza, que foi determinada conforme as Regras para Análise de Sementes - RAS (MAPA 2009) com uma amostra de 8,0 g de sementes por repetição, pesadas em balança de precisão (0,001 g), sendo separados os seguintes componentes: sementes puras, outras sementes e material inerte. Cada porção foi pesada e os resultados expressos em porcentagem por peso da amostra de trabalho. As demais avaliações foram realizadas a partir da porção de sementes puras obtidas nesse teste.

O teor de água das sementes foi determinado pelo método da estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ durante 24 horas, utilizando-se cinco repetições de 3,0 g

de sementes por tratamento, conforme as RAS (MAPA 2009).

A massa de mil sementes foi estimada pela avaliação de oito repetições de 100 sementes, retiradas da porção sementes puras e pesadas individualmente em balança de precisão (0,001 g), com os resultados expressos em grama, segundo as determinações das RAS (MAPA 2009).

O teste de germinação foi realizado utilizando cinco repetições de 50 sementes, distribuídas sobre duas folhas de papel germitest, umedecidas com volume de água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco, em caixas de plástico do tipo gerbox. As caixas foram mantidas em germinadores sob temperaturas alternadas de 20 e 35°C sob oito horas de exposição à luz branca e 16 horas de escuro. As avaliações foram feitas no décimo dia (primeira contagem de germinação) e vigésimo oitavo dia após a semeadura, e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais, segundo os critérios estabelecidos nas RAS (MAPA 2009). No vigésimo oitavo dia foi avaliada também a porcentagem de sementes dormentes.

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi determinado em conjunto com o teste de germinação, a partir de contagens diárias do número de sementes germinadas até o vigésimo oitavo dia após a instalação do teste. Ao final do teste, com os dados diários do número de sementes germinadas, foi calculado o índice de velocidade de germinação, empregando-se a fórmula proposta por Maguire (1962).

O tempo médio de germinação (TMG) foi obtido através de contagens diárias das sementes germinadas até o vigésimo oitavo dia após a semeadura e calculado através da fórmula proposta por Labouriau (1983), sendo os resultados expressos em dias.

Os dados coletados foram submetidos à verificação dos pressupostos da análise de variância, pelos testes de Shapiro-Wilk ($P=0,78$) e Bartlett ($P>0,10$). Em seguida, utilizou-se o programa estatístico SISVAR® (Ferreira 2011) para avaliação dos resultados, que foram submetidos à análise

de variância em nível de 5 % de probabilidade. Quando significativos, os efeitos dos tratamentos foram comparados pelo teste Tukey a 5 % de significação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados verificados para pureza física, teor de água e massa de mil sementes de capim-Mombaça, são apresentados na Tabela 1. Observa-se que a maior porcentagem de pureza (69,4 %) foi obtida em sementes provenientes da empresa 1, seguido das empresas 2 e 3 que apresentaram 47,6 e 36,9 % de sementes puras, respectivamente. Os resultados obtidos na análise de pureza evidenciam grande discrepância entre os lotes avaliados.

De acordo com a Instrução Normativa nº 30, o padrão mínimo estabelecido para a comercialização de sementes de capim-Mombaça, é de 50 % de pureza (MAPA 2008). Dentre os lotes avaliados, somente as sementes procedentes da empresa 1 atenderam o padrão mínimo de pureza estabelecido pela legislação brasileira, evidenciando a falta de fiscalização na comercialização de sementes de espécies forrageiras no Norte de Minas Gerais.

Ohlson *et al.* (2011) em trabalho com cultivares de capim-colonião e milheto, verificaram que as cultivares de *Panicum* não estavam nos parâmetros legais de pureza, provavelmente por ineficiência no beneficiamento, necessitando avaliação das mesmas em várias purezas diferentes.

A menor porcentagem de pureza física nas empresas 2 e 3, é reflexo do beneficiamento de sementes, caracterizando que o conjunto de operações sequenciadas destinadas a aprimorar as características do lote mediante homogeneização e melhoria principalmente da qualidade física, mas também da fisiológica (Hessel *et al.* 2012, Pereira *et al.* 2012) que não foram adotados corretamente. Sendo assim, em lotes de sementes com menor pureza física implica na presença de sementes deformadas (chochas), terra, areia, palha, pedras e sementes de plantas daninhas em proporções variáveis (Hessel *et al.* 2012, de Quadros *et al.* 2012) que não poderiam ser comercializados no mercado nacional, por não atenderem aos padrões de pureza exigidos pelo do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Possivelmente, o valor de aquisição das sementes, na mesma quantidade, de capim-Mombaça nas empresas 2 e 3 é menor que a empresa 1. No entanto, devido a baixa qualidade das sementes dos lotes das empresas 2 e 3, especialmente da empresa 3, a quantidade necessária de sementes para a formação da mesma área de pasto é maior, o que torna um impacto desfavorável nos custos de produção, uma vez que mais sementes devem ser utilizadas para produção desta forragem em relação aos lotes comercializados na empresa 1. No entanto, é fundamental a conscientização de pecuaristas e produtores quanto à importância de adquirir lotes de sementes dentro dos padrões nacionais de comercialização.

Tabela 1. Pureza física (PU), teor de água (TA) e massa de mil sementes (MMS) de sementes de capim-Mombaça provenientes de três empresas situadas no norte de Minas Gerais.

Procedência	PU (%)	TA (%)	MMS (g)
1	69,4 ^a	7,2 ^a	1,44 ^a
2	48,0 ^b	7,4 ^a	1,58 ^a
3	36,9 ^b	6,8 ^a	1,12 ^b
Coeficiente de Variação (%)	16,5	15,21	8,45
Probabilidade	<0,01	0,74	<0,01

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5 % de significância.

Adicionalmente, vale ressaltar que os resultados de pureza física verificados nas sementes das empresas 2 e 3 pode ser em função do método colheita por varredura no solo e do beneficiamento de sementes, o que, em geral, ocasiona grande diferença na qualidade física e fisiológica dessas sementes (Laura *et al.* 2009).

Os teores de água das sementes não diferiram entre si ($P=0,74$), com média de 7,1 % de umidade (Tabela 1). O teor ideal de água para conservação de sementes de forrageiras é de até 10 % (Novembre *et al.* 2006), sendo assim, os resultados observados estão dentro deste parâmetro exigido. Essa semelhança de valores é importante para que os testes não sejam afetados por diferenças na atividade metabólica, velocidade de umedecimento e na intensidade de deterioração das sementes (Steiner *et al.* 2011). A longevidade das sementes está estritamente ligada ao teor de água, uma vez que esta interfere diretamente nos processos fisiológicos, com redução da qualidade da semente, chegando a afetar diretamente o vigor e até o poder germinativo (Marcos Filho 2015).

Com relação à massa de mil sementes (Tabela 1), nota-se diferenças significativas entre as empresas estudadas, com maiores valores observados nas sementes procedentes das empresas 1 (0,144 g) e 2 (0,158 g). Conhecer essa informação é importante, para que seja calculada a densidade de sementeira, o número de sementes por embalagem e o peso da amostra de trabalho para análise de pureza, quando não especificado nas

regras de análise de sementes, além de indicar e apontar uma ideia sobre do tamanho das sementes, assim como de seu estado de maturidade e de sanidade (MAPA 2009). Laura *et al.* (2009) ressaltam que a massa das sementes é influenciada por uma série de fatores, como as condições climáticas, região geográfica, época de colheita, nutrição das plantas, e as características genéticas de cada espécie.

A germinação das sementes (Tabela 2) foi influenciada pelas diferentes procedências, sendo as maiores porcentagens verificadas nas sementes das empresas 1 e 2, com valores de 76 e 72 % respectivamente, diferindo dos resultados encontrados para empresa 3, que obteve germinação inferior (16 %) (Tabela 2). Vale ressaltar que a porcentagem de germinação obtidas nas sementes das empresas 1 e 2 (74 %) estão acima de 50 %, que é o valor mínimo estabelecido pela Instrução Normativa nº 30, para a comercialização de sementes certificadas de capim-Mombaça (MAPA 2008).

Análise realizada por do Canto *et al.* (2012) verificaram porcentagem de germinação de sementes de capim-Mombaça, na ordem de 13 %, enquanto que de Almeida *et al.* (2015), também para sementes de capim-Mombaça, reportaram 18 % de germinação. Já Trigueiro *et al.* (2007) observaram valores de germinação na ordem de 77 % para *P. maximum* cv. Tanzânia.

A média de germinação das sementes das empresas 1 e 2 foi 362,5 % superior a porcentagem

Tabela 2. Germinação (GER) e sementes dormentes (SD), de sementes de capim-Mombaça provenientes de três empresas situadas no norte de Minas Gerais.

Procedência	GER (%)	SD (%)
1	76 ^a	20 ^b
2	72 ^a	22 ^b
3	16 ^b	57 ^a
Coeficiente de Variação (%)	10,54	19,66
Probabilidade	<0,01	<0,01

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de significância.

de germinação verificado nas sementes procedentes da empresa 3 (16 %; $P < 0,01$). Os baixos valores verificados na massa de mil sementes (0,112 g) para a empresa 3 justificam a menor germinação e maior porcentagem de sementes dormentes verificadas (SD; média 57 %). Os valores médios obtidos na porcentagem de sementes dormentes da empresa 3 foi 171 % superior ($P < 0,01$) aos valores observados nas sementes oriundas das empresas 1 e 2, que não diferiram entre si ($P > 0,05$; média de 21 %). Vários são os fatores que justificam essas variações de repostas conforme citados por Laura *et al.* (2009).

Os autores, Whiteman e Mendra (1982) destacaram que a colheita antecipada das sementes e a compactação das mesmas durante o armazenamento associada às restrições de entrada de oxigênio são os fatores que mais influenciam na germinação e dormência. Para sementes recém-colhidas de gramíneas forrageiras, pede-se que permaneçam armazenadas por 6 a 9 meses, como forma de reduzir a intensidade da dormência (Costa *et al.* 2011), para serem comercializadas dentro dos padrões de germinação atendendo a Instrução Normativa nº 30, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Semelhante à germinação, os testes de primeira contagem de germinação (PCG) e índice de velocidade de germinação (IVG) que avaliam o vigor das sementes, foram influenciados pelas diferentes procedências de capim-Mombaça ($P < 0,01$; Tabela 3). Neste estudo, as sementes procedentes

das empresas 1 e 2 (68 %) apresentaram resultados na PCG 871,4 % superior as sementes da empresa 3 (7 %). A primeira contagem de germinação é um teste de vigor simples, realizado simultaneamente ao teste de germinação, e baseia-se no pressuposto de que as sementes mais vigorosas germinam mais rápido.

Os resultados do presente trabalho são próximos aos encontrados por Maschietto *et al.* (2003), os quais observaram valores de 66,35% de germinação por meio do teste de primeira contagem para sementes de *P. maximum* cv Mombaça.

Sementes de menor qualidade, procedente da empresa 3, apresentaram IVG e TMG 550 % inferior e 38 % superior, respectivamente, em relação a média das sementes procedentes das empresas 1 e 2, que apresentaram maiores IVG. Maiores valores de IVG do capim-Mombaça indicam que as sementes procedentes das empresas 1 e 2 tem desenvolvimento inicial mais rápido que as sementes da empresa 3.

De acordo com Pariz *et al.* (2010), maiores valores nos resultados dos testes de primeira contagem de germinação e índice de velocidade e germinação é importante para caracterizar uma uniformidade de desempenho, com ótima taxa de germinação, em menor tempo, o que permite inferir que uma grande quantidade de sementes tem potencial para rápido e uniforme estabelecimento, em condições de campo, proporcionando a rápida formação de pastagens, e de maneira mais uniforme.

Tabela 3. Primeira contagem de germinação (PCG), índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG), de sementes de capim-Mombaça provenientes de três empresas situadas no norte de Minas Gerais.

Procedência	PCG (%)	IVG	TMG (dias)
1	68 ^a	12,3 ^a	3,5 ^b
2	68 ^a	11,1 ^a	3,6 ^b
3	7 ^b	1,8 ^b	4,9 ^a
Coeficiente de Variação (%)	8,98	11,8	14,72
Probabilidade	<0,01	<0,01	<0,01

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5 % de significância.

CONCLUSÃO

Há variação na qualidade física e fisiológica das sementes de capim-Mombaça comercializadas no norte de Minas Gerais, sendo que somente as sementes oriundas das empresas 1 e 2 atenderam aos padrões mínimos de pureza física e germinação para comercialização de sementes dessa espécie.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), pelo apoio financeiro, e à Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes), pelo apoio técnico para o desenvolvimento desta pesquisa.

LITERATURA CITADA

- Barbero, RP; Malheiros, EB; Araújo, TLR; Nave, RLG; Mulliniks, JT; Berchielli, TT; Ruggieri, AC; Reis, RA. 2015. Combining Marandu grass grazing height and supplementation level to optimize growth and productivity of yearling bulls. *Animal Feed Science and Technology* 209(1):110-118.
- Costa, CJ; de Araújo, RB; Bôas, HDCV. 2011. Tratamentos para a superação de dormência em sementes de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 41(4):519-524.
- de Almeida, GM; do Canto, MW; Neto, AB; da Costa, ACS. 2015. The response of a Mombaça grass seed crop to timing and levels of boron fertilization. *Semina: Ciências Agrárias* 36(3):1545-1558.
- de Melo, LF; Martins, CC; da Silva, GZ; Boneti, JEB; Vieira, RD. 2016. Beneficiamento na qualidade física e fisiológica de sementes de capim-mombaça. *Revista Ciência Agronômica* 47(4):667-674.
- de Quadros, DG; Andrade, AP; de Quadros Oliveira, GC; Oliveira, EP; Moscon, ES. 2012. Componentes da produção e qualidade de sementes dos cultivares marandu e xaraés de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf colhidas por varredura manual ou mecanizada. *Semina: Ciências Agrárias* 33(5):2019-2028.
- do Canto, MW; Barth Neto, A; Pancera Júnior, EJ; Gasparino, E; Boleta, VS. 2012. Produção e qualidade de sementes do capim-mombaça em função da adubação nitrogenada. *Bragantia* 71(3):430-437.
- Ferreira, DF. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia* 35(6):1039-1042.
- Hessel, CLE; Villela, FA; Aumonde, TZ; Pedó, T. 2012. Mesa densimétrica e qualidade fisiológica de sementes de brachiária. *Informativo ABRATES* 22(3):73-76.
- Jank, L; Resende, RMS; do Valle, CB; Resende, MDV; Chiari, L; Cançado, LM; Simioni, C. 2008. Melhoramento genético de *Panicum maximum*. In *Melhoramento de forrageiras tropicais*. Campo Grande, Brasil. EMBRAPA Gado de Corte. p. 55-87.
- Labouriau, LG. 1983. A germinação das sementes. Washington, EUA, Secretaria Geral da organização dos Estados Americanos. 174 p.
- Laura, VA; Rodrigues, A; Arias, ERA; Chermouth, KS; Rossi, T. 2009. Qualidade física e fisiológica de sementes de braquiárias comercializadas em Campo Grande-MS. *Ciência e Agrotecnologia* 33(1):326-332.
- Maguire, LD. 1962. Speed of germination-aid in selection and evolution for seedling emergence and vigor. *Crop Science* 2(2):176-177.
- MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). 2008. Instrução normativa nº 30. Normas e padrões para produção e comercialização de sementes de espécies forrageiras de clima tropical. *Diário Oficial da União, Brasília, DF. Seção 1, p. 45. 2 mai.*
- MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). 2009. Regras para análise de sementes. Brasília, Brasil. 399 p.

- Marcos Filho, J. 2005. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Piracicaba, Brasil, FEALQ. 495 p.
- Maschietto, RW; Novembre, ADDLC; da Silva, WR. 2003. Métodos de colheita e qualidade das sementes de capim colonião cultivar mombaça. *Bragantia* 62(2):291-296.
- Novembre, ADLC; Chamma, HMCP; Gomes, RBR. 2006. Viabilidade das sementes de braquiária pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes.*, 28(2):147-151.
- Ohlson, OC; Souza, JLCR; Nogueira, BA; Silva, M; Panobianco. 2011. Informações sobre a qualidade de sementes de *Brachiaria brizantha* comercializadas no estado do Paraná. *Informativo ABRATES* 21(3):52-56.
- Ohlson, OC. 2010. Qualidade física e fisiológica de sementes de capim-colonião e milheto, comercializadas no estado do Paraná. *Informativo ABRATES* 20(3):30-36.
- Pariz, CM; Ferreira, RL; de Sá, ME; Andreotti, M; Chioderoli, CA; Ribeiro, AP. 2010. Qualidade fisiológica de sementes de *Brachiaria* e avaliação da produtividade de massa seca, em diferentes sistemas de integração lavoura-pecuária sob irrigação. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 40(3):330-340.
- Pereira, CE; Albuquerque, KS; Oliveira, JA. 2012. Qualidade física e fisiológica de sementes de arroz ao longo da linha de beneficiamento. *Semina: Ciências Agrárias* 33(supl.1):2995-3002.
- Peron, AJ; Evangelista, AR. 2004. Degradação de pastagens em regiões de cerrado. *Ciência e Agrotecnologia* 28(3):655-661.
- Sampaio, RL; de Resende, FD; Reis, RA; de Oliveira, IM; Custódio, L; Fernandes, RM; Pazdiora, RD; Siqueira, GR. 2017. The nutritional interrelationship between the growing and finishing phases in crossbred cattle raised in a tropical system. *Tropical Animal Health Production* 49(5):1015-1024.
- Steiner, F; de Oliveira, SSC; Martins, CC; Cruz, SJS. 2011. Comparação entre métodos para a avaliação do vigor de lotes de sementes de triticales. *Ciência Rural* 41(2):200-204.
- Trigueiro, LRC; Martins, D; Domingos, VD; Martins, CC; Terra, MA; Cardoso, LA. 2007. Seletividade de herbicidas aplicados em pós-emergência sobre capim-colonião e efeito na qualidade das sementes. *Planta Daninha* 25(2):341-349.
- Whiteman, PC; Mendra, K. 1982. Effects of storage and seed treatments on germination of *Brachiaria decumbens*. *Seed Science and Technology* 10(2):233-242.

Nota Técnica

População fúngica aeróbia ruminal de ovinos recebendo torta de macaúba

Antonio Carlos R. dos Santos¹, Paula M. Barbosa¹, Rafael A. de Azevedo¹,
Welder A. Baldassini¹, Eduardo R. Duarte¹, Luciana C. Geraseev*¹

¹Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais. Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. ²Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, Brasil. *Correio Eletrônico: lgeraseev@gmail.com

RESUMO

Fungos provenientes do ambiente ruminal podem representar potencial promissor para degradar componentes fibrosos vegetais. Nesta pesquisa, objetivou-se avaliar os efeitos de diferentes níveis de inclusão da torta de macaúba (TM) na dieta de cordeiros, sobre a população de fungos aeróbicos do rúmen. Vinte e quatro cordeiros Santa Inés foram distribuídos em um delineamento de blocos casualizados, com quatro tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram 0, 100, 200 e 300 g/kg da TM. Alíquotas de 100 µL de líquido ruminal foram inoculadas em placas estéreis contendo o meio de cultura ágar Sabouraud. As placas foram incubadas e foi realizado o monitoramento do crescimento de colônias fúngicas por até sete dias. Realizou-se a identificação dos fungos micelianos por microcultivo de 45 isolados. O aumento dos níveis de inclusão da TM na dieta resultou em aumento linear na concentração de fungos micelianos ($P<0,01$) e diminuição linear na concentração de fungos leveduriformes ($P<0,01$). Verificou-se maior diversidade de gêneros de fungos micelianos em cordeiros alimentados com menores níveis de inclusão da TM na dieta. O gênero mais frequente nas dietas com inclusão de 200 e 300 g/kg da TM foi o *Aspergillus*, o qual poderia ter contribuído com a degradação das fibras presentes na TM.

Palavras-chave: *Acrocomia aculeata*, macauba, micobiota, ovinos, parâmetros ruminais.

Population of ruminal aerobic fungi in lambs fed with macaúba meal

ABSTRACT

Fungi from the ruminal environment could present promising potential to degrade plant fibrous components. The objective in this study was to evaluate the effects of the levels of macauba meal (MM) in the diet of lambs, on the population of aerobic rumen fungi. Twenty-four Santa Inés lambs were distributed in a randomized block design with four treatments and six replications. The treatments were 0, 100, 200 and 300 g/kg of TM. Aliquots of 100 µL of ruminal fluid were inoculated into the sterile plates containing agar Sabouraud medium. The growth colonies were monitored for seven days and the identification of mycelial fungi was performed by microculture of 45 isolates from rumen fluid. Increased levels of MM in the diet resulted in higher ($P<0.01$) concentration of mycelial fungi and reduction ($P<0.01$) of the yeast population. Higher genera diversity of mycelial fungi from lambs fed with lower levels of MM was observed. The most frequent genus for 200 and 300 g/kg inclusions was *Aspergillus* that could be contributing to fiber digestibility of the MM.

Key words: *Acrocomia aculeata*, macauba, mycobiota, ruminal parameters, sheep.

Población de hongos aeróbicos ruminales en corderos alimentados con torta de macaúba

RESUMEN

Los hongos del ambiente ruminal podrían presentar un potencial prometedor para degradar los componentes fibrosos de las plantas. El objetivo en este estudio fue evaluar los efectos de la inclusión de varios niveles de harina de macaúba (HM) en la dieta de corderos sobre la población de hongos ruminales aeróbicos. Veinticuatro corderos Santa Inês fueron distribuidos en un diseño de bloques al azar, a cuatro tratamientos y seis repeticiones. Los tratamientos fueron 0, 100, 200 y 300 g/kg de HM. Se inocularon alícuotas de 100 µl de fluido ruminal en placas estériles que contenían medio Sabouraud. El crecimiento de las colonias de hongos se monitoreó durante siete días y la identificación de hongos filamentosos se realizó mediante microcultivo de 45 aislados. Los niveles incrementales de HM en la dieta promovieron una concentración más alta ($P < 0,01$) de hongos miceliales y reducida población de levaduras ($P < 0,01$). Se observó una mayor diversidad de géneros de hongos miceliales en corderos alimentados con menores niveles de inclusión de HM. El género más frecuente en los niveles de 200 y 300 g/kg fue *Aspergillus* spp. que podría estar contribuyendo con la digestibilidad de la fibra de HM.

Palabras clave: *Acrocomia aculeata*, macaúba, micobiota, parámetros ruminales, ovejas,

INTRODUÇÃO

A microbiota ruminal é principalmente constituída por bactérias (10^{10} /mL), protozoários ciliados (10^6 /mL), fungos anaeróbios (10^6 /mL), os quais interagem entre si de diversas formas (Russel *et al.* 2001, Kamra 2005). Dentre esses microrganismos, os fungos autóctones do rúmen assumem papel relevante por serem pioneiros na colonização dos tecidos vegetais, propiciando com que outros microrganismos utilizem os carboidratos solúveis presentes internamente à parede celular (Wang *et al.* 2017). Pesquisas têm demonstrado a presença de fungos micelianos e leveduriformes no rúmen com potencial biotecnológico, sendo o crescimento desses microrganismos dependentes de fatores intrínsecos e extrínsecos aos animais, como a categoria animal e o alimento fornecido (Abrão *et al.* 2014).

A torta da macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. Ex Mart.), é um resíduo da extração do óleo da polpa do coco, que pode ser utilizado na alimentação de ruminantes (de Azevedo *et al.* 2012; de Azevedo *et al.* 2013b). Não obstante, este coproduto pode alterar a microbiota ruminal, devido aos teores elevados de carboidratos fibrosos na torta de macaúba, representado por 49,4 % de fibra em detergente ácido (FDA) e 72% de fibra em detergente neutro (FDN, além de lipídeos,

representado por 19,2 % de extrato etéreo (EE), de acordo com dados relatados por dos Santos *et al.* (2015, 2017). Com base no acima, objetivou-se com esta pesquisa avaliar o efeito do fornecimento desse coproduto sobre a população de fungos micelianos e leveduriformes do rúmen de ovinos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais aprovou os procedimentos utilizados com os animais (Protocolo: 87/2008).

Utilizou-se 24 cordeiros Santa Inês, com idade média de cinco meses e peso corporal de $23,9 \pm 0,6$ kg, os quais foram distribuídos em um delineamento de blocos casualizados, com quatro tratamentos e seis repetições. Os tratamentos consistiram em dietas contendo 0, 100, 200 e 300 g/kg da TM na matéria seca. O período experimental foi de 70 dias, sendo os 10 dias iniciais para adaptação dos animais. No início do período de adaptação os animais foram alojados individualmente em baias de 1,0 x 1,0 m, identificados, tratados com antihelmíntico (Aldazol 10 CO® laboratório Vallée SA, Montes Claros, Minas Gerais, Brazil), e imunizados para clostridiose

(POLI-R® laboratório Vallée SA, Montes Claros, Minas Gerais, Brazil).

Durante o período experimental a alimentação foi fornecida duas vezes ao dia, em horários preestabelecidos as sete e às 17 horas, ajustada de forma a manter as sobras em 20 % do oferecido. A tabela 1 mostra a composição das dietas experimentais; elas foram isonitrogenadas e formuladas de acordo com as recomendações do NRC (2007).

Ao final do período experimento, os borregos foram submetidos a jejum de sólidos por 12 horas e abatidos por sangria após concussão cerebral em frigorífico com inspeção municipal. Após o abate foram coletadas amostras de líquido ruminal de cada cordeiro, por incisão do saco ventral do rúmen.

Coletou-se aproximadamente 15 mL de fluido ruminal, com auxílio de pipetas estéreis. As amostras foram armazenadas em tubos de ensaio e transportadas em caixas isotérmicas, a 4°C para o laboratório. Foram conduzidas análises físico-químicas como cor, odor, viscosidade e tempo de redução do azul de metileno (PRAM) na

concentração 0,03 % (Dirksen 1993). Mensurou-se o pH do líquido ruminal com uso de potenciômetro digital, imediatamente após a coleta.

As variáveis avaliadas foram contagem de unidade formadora de colônias (UFC), no perfil da população fúngica miceliana e nas características do líquido ruminal. Para os cultivos micológicos, transferiu-se alíquotas de 1000 µL para tubos contendo 9,0 mL de solução salina estéril, para preparar diluições decimais seriadas até a diluição 10⁻⁸ (de Almeida *et al.* 2012). Inoculou-se alíquotas de 100 µL em placas estéreis contendo o meio de cultura ágar Sabouraud acrescido de cloranfenicol (150 mg/L). Os regentes desse meio foram solubilizados em água destilada estéril e esterilizados em autoclave a 121°C durante 15 minutos.

A incubação foi realizada a 39°C e monitorou-se o crescimento de colônias fúngicas por até sete dias (Lacaz *et al.* 2002). Após esse período as colônias foram quantificadas em um contador de colônias e aquelas predominantes foram reisoladas em tubos contendo o mesmo meio de cultura. Realizou-se a técnica de microcultivo de

Tabela 1. Composição percentual e química bromatológica das dietas experimentais

Ingredientes	Níveis (g/kg) da TM na dieta			
	0	100	200	300
Silagem de Sorgo (g/kg de MS)	300,0	300,0	300,0	300,0
Farelo de Soja (g/kg de MS)	149,8	153,0	156,1	159,3
Milho (g/kg de MS)	486,5	384,0	281,4	178,9
Caroço de Algodão (g/kg de MS)	50,0	50,0	50,0	50,0
Torta de Macaúba (g/kg de MS)	0,00	100,0	200,0	300,0
Fosfato Bicálcico (g/kg de MS)	3,3	3,3	3,4	3,4
Calcário (g/kg de MS)	7,4	6,7	6,1	5,4
Sal Comum (g/kg de MS)	2,8	2,8	2,8	2,8
Premix Mineral (g/kg de MS)	0,2	0,2	0,2	0,2
Matéria seca (g/kg)	729,2	739,4	743,0	748,0
Proteína bruta (g/kg da MS)	150,1	158,8	158,1	157,4
Extrato etéreo (g/kg da MS)	39,0	49,5	62,0	67,9
Fibra em detergente neutro (g/kg da MS)	320,9	363,5	408,8	431,7
Fibra em detergente ácido (g/kg da MS)	167,5	203,3	249,6	272,3
Carboidratos totais (g/kg da MS)	768,1	744,9	728,0	716,1
Carboidratos não fibrosos (g/kg da MS)	447,2	381,4	319,2	284,4

45 isolados provenientes do fluido ruminal dos cordeiros para a identificação dos fungos micelianos e as características micromorfológicas foram evidenciadas a luz do microscópio óptico com objetivas de 10 e 40X (Lacaz *et al.* 2002). Os fungos foram identificados de acordo com as características descritas em de Hoog *et al.* (2000) e Lacaz *et al.* (2002).

Os dados foram analisados de acordo com o procedimento GLM do SAS (versão 9.1; SAS Institute Inc., Cary, Carolina do Norte, EUA). Os dados de contagem de UFC foram analisados após transformação logarítmica (\log_{10}) e, em seguida a análise de regressão foi utilizada para as variáveis de contagem de UFC e de características do líquido ruminal. Para a análise do perfil da população de fungos micelianos, os valores absolutos dos gêneros identificados foram comparados, utilizando-se o teste de Qui-quadrado com nível de significância de 5 %.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inclusão da TM nas dietas alterou as características físicas do fluido ruminal. A característica viscosidade foi a mais influenciada, os animais alimentados com TM apresentaram fluido ruminal

aquoso, enquanto a maioria dos cordeiros recebendo a dieta controle apresentou fluido ruminal espesso. Entretanto, não foram observadas alterações nos valores médios de potencial de redução do azul de metileno (PRAM) e de pH com a inclusão de TM (Tabela 2). Dessa forma, esse coproduto não estaria comprometendo atividade da microbiota ruminal ao considerar esses parâmetros.

Os valores de PRAM verificados nesta pesquisa foram semelhantes aos descritos por Dirksen (1993), que em caso de atividade ruminal muito ativa, o azul de metileno é reduzido em até três minutos. Os valores de pH estiveram sempre acima de 6,5 indicando que o ambiente ruminal permaneceu favorável ao desenvolvimento dos microrganismos responsáveis pela degradação de carboidratos fibrosos.

Os gêneros *Aspergillus* e *Rhizopus* foram isolados nos quatro tratamentos (Tabela 2). Sendo que o gênero *Rhizopus* predominou nos tratamentos sem inclusão de TM e com 100 g/kg desse coproduto na dieta, correspondendo a 33,3 % dos fungos micelianos identificados. Por outro lado, com a inclusão de 200 e 300 g/kg da TM na dieta, o gênero mais frequente passou a ser o *Aspergillus*, correspondendo a 50,0 % e 40,0 % dos fungos

Tabela 2. Efeito da inclusão da torta de macaúba (TM) na dieta sobre as características químicas, unidades formadoras de colônias (UFC x 10⁶ mL⁻¹) e proporção (%) de gêneros de fungos micelianos no conteúdo ruminal de ovinos alimentados com diferentes níveis de torta de macaúba (TM).

	Níveis (g/kg) da TM na dieta				EPM	valor de p	
	0	100	200	300		Linear	Quad
pH	6,5	6,5	6,6	6,6	0,192	0,38	0,76
PRAM ¹ , minutos	2,2	1,9	0,4	1,5	0,049	0,17	0,31
UFC (x 10 ⁶ mL ⁻¹)							
Fungos leveduriformes	19	25	6	4	0,118	<0,01	0,84
Fungos micelianos	5	9	11	23	0,105	<0,01	0,21
Gêneros de fungos micelianos (%)							
<i>Aspergillus</i>	11,1	22,2	50,0*	40,0*			
<i>Rhizopus</i>	33,3*	33,3*	33,3	26,7			
<i>Trichophyton</i>	22,2	22,2	-	13,3			
<i>Paecilomyces</i>	11,1	-	16,7	20,0			
<i>Scedosporium</i>	11,1	11,1	-	-			
<i>Scopulariopsis</i>	11,1	11,1	-	-			
Total identificado ²	9	9	12	15			

¹Potencial de redução do azul de metileno.

²Número total de fungos micelianos identificados por grupo de tratamento.

*Gêneros mais frequentes, teste do Qui-quadrado com P<0,05.

micelianos encontrados, respectivamente. Esse último gênero poderia ter papel favorável na degradação das fibras presentes na TM, pois pesquisas tem demonstrado intensa atividade celulolítica para esse fungo (Oyelek e Okusanmi 2008, de Almeida *et al.* 2014).

Constatou-se a presença de leveduras e fungos micelianos para amostras de todos os animais avaliados. A concentração de leveduras decresceu linearmente ($P < 0,01$) com os níveis de inclusão da TM (Tabela 2). Os menores números de colônias leveduriformes com a inclusão do coproduto podem estar associados à menor ingestão de carboidratos não fibrosos (CNF) e ao maior consumo de extrato etéreo (EE) (de Azevedo *et al.* 2012), uma vez que a carência de carboidratos solúveis resulta em diminuição significativa na quantidade de leveduras e a suplementação lipídica em excesso poderia ocasionar efeitos deletérios sobre o crescimento da microbiota ruminal (de Almeida *et al.* 2012, Messana *et al.* 2012).

A concentração de fungos micelianos apresentou crescimento linear ($P < 0,01$) com o aumento dos níveis de inclusão da TM. Esse crescimento pode ser atribuído ao aumento do consumo de fibra em detergente neutro (de Azevedo *et al.* 2012), os fungos micelianos podem produzir enzimas que degradam celulose e hemicelulose (Oyeleke e Okusanmi 2008), podendo, portanto, utilizar carboidratos fibrosos como fonte de energia para o crescimento. Em pesquisas anteriores (de Azevedo *et al.* 2012, 2013a, 2013b; dos Santos *et al.* 2015, 2017), constatou-se que os teores de fibra em detergente neutro (hemicelulose, celulose e lignina) na torta de macaúba foram altos, variando de 62,08 a 72,03 %, o que provavelmente contribuiu para o aumento da concentração de fungos micelianos.

Foram identificados 45 isolados de fungos micelianos utilizando-se a técnica de microcultivo. Verificou-se maior diversidade de gêneros entre os isolados provenientes de cordeiros alimentados com menores níveis (0 e 100 g/kg) de inclusão da TM na dieta. (Tabela 2). Nesses níveis foram observadas estruturas fúngicas típicas dos gêneros *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Trichophyton*,

Paecilomyces, *Scedosporium* e *Scopulariopsis*. A redução na diversidade com inclusão da TM pode estar relacionada com o aumento na suplementação lipídica, uma vez que de acordo com dos Santos *et al.* (2017), a TM possui um perfil lipídico de ácidos graxos insaturados (1:3,4 saturados:insaturados), que pode ocasionar efeitos deletérios sobre o crescimento da microbiota.

CONCLUSÕES

As alterações na população de fungos micelianos e leveduriformes do rúmen de ovinos alimentados com torta de macaúba são reflexo principalmente da redução na disponibilidade ruminal de carboidratos não fibrosos e aumento dos carboidratos fibrosos e lipídeos. Assim, a inclusão da TM na dieta de cordeiros Santa Inês diminui a diversidade de gêneros de fungos micelianos e a concentração de fungos leveduriformes, mas proporciona aumento na concentração de fungos micelianos.

LITERATURA CITADA

- Abrão, FO; Duarte, ER; Freitas, CE; Vieira, EA; Geraseev, LC; da Dilva- Huhges, AF; Rosa, CA; Rodrigues, NM. 2014. Characterization of fungi from ruminal fluid of beef cattle with different ages and raised in tropical lignified pastures. *Current Microbiology* 69(5):649-659.
- de Almeida, PNM; Duarte, ER; Abrão, FO; Freitas, CES; Geraseev, LC; Rosa, CA. 2012. Aerobic fungi in the rumen fluid from dairy cattle fed with different sources of forage. *Revista Brasileira de Zootecnia* 41(11):2336-2342.
- de Almeida, PNM; Freitas, CES; Abrão, FO; Ribeiro, ICO; Vieira, EA; Geraseev, LC; Duarte, ER. 2014. Atividade celulolítica de fungos aeróbios isolados do rúmen de bovinos leiteiros alimentados com forragens tropicais. *Revista Caatinga* 27(4):202-207.
- de Azevedo, RA; Rufino, LMA; Santos, ACR; Ribeiro Júnior, CS; Rodriguez, NM; Geraseev, LC. 2013a. Comportamento ingestivo de cordeiros alimentados com torta de macaúba. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 65(2):490-496.

- de Azevedo, RA; Santos, ACR; Ribeiro Júnior, CS; Bicalho, FL; Bahiense, RN; Araújo, L; Geraseev, LC. 2013b. Comportamento ingestivo de vacas alimentadas com torta de macaúba. *Ciência Rural* 43(8):1485-1488.
- de Azevedo, RA; Rufino, LMA; Santos, ACR; Silva, LP; Bonfá, HC; Duarte, ER; Geraseev, LC. 2012. Desempenho de cordeiros alimentados com inclusão de torta de macaúba na dieta. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 47(11):1663-1668.
- de Hoog, GS; Guarro, J; Figueras, MJ; Gené, J. 2000. *Atlas of Clinical Fungi*. 2 ed. Utrecht, The Netherlands, Centraalbureau voor Schimmelcultures. 1126 p.
- Dirksen, G. 1993. Sistema digestivo. In Dirksen, G; Gründer, HD; Stöber, M. (eds.). *Rosenberger: Exame clínico dos bovinos*. Brasil, Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan. p.167-169.
- dos Santos, ACR; de Azevedo, RA; Virginio Júnior, GF; Rodriguez, NM; Duarte, ER; Geraseev, LC. 2017. Effects of macauba cake on profile of rumen protozoa of lambs. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46(3):251-256.
- dos Santos, ACR; Magalhães, DQ; Azevedo, RA; Vieira, ILNL; França, DEG; Geraseev, LC; Duarte, ER. 2015. Efeito da inclusão da torta de macaúba na população de protozoários do rúmen de vacas leiteiras. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 67(6):1653-1659.
- Kamra, DN. 2005. Rumen microbial ecosystem. *Current Science* 89(1):124-135.
- Lacaz, CS; Porto, E; Martins, JEC; Heins-Vaccari, EM; Takahashi De Melo, N. 2002. *Tratado de micologia médica* 9 ed. Brasil, São Paulo, Sarvier. 1104 p.
- Messana, JD; Berchielli, TT; Arcuri, PB; Ribeiro, AF; Fiorentini, G; Canesin, RC. 2012. Effects of different lipid levels on protozoa population, microbial protein synthesis and rumen degradability in cattle. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* 34(3):279-285.
- NRC (National Research Council). 2007. *Nutrient requirement of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids*. Washington DC, USA. The National Academy Press.
- Oyeleke, SB; Okusanmi, TA. 2008. Isolation and characterization of cellulose hydrolyzing microorganism from the rumen of ruminants. *African Journal of Biotechnology* 7(10):1530-1504.
- Russel, JB; Rychlik, JL. 2001. Factors that alter rumen microbial ecology. *Science* 292(5519):1119-1122.
- Wang, X; Liu, X; Groenewald, JZ. 2017. Phylogeny of anaerobic fungi (phylum *Neocallimastigomycota*), with contributions from yak in China. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 110(1):87-103.

INSTRUCCIONES AL AUTOR

REVISTAS CIENTÍFICAS DEL INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS

Las revistas científicas del INIA, *Agronomía Tropical* y *Zootecnia Tropical*, se fundaron con el propósito de fomentar y mantener el intercambio de información entre los investigadores. Se divulgan resultados de la investigación e innovación en el campo de las ciencias agrícolas animales y vegetales, tanto por el INIA como por otras instituciones, nacionales e internacionales.

Agronomía Tropical inicia su publicación en el año 1951, mientras que *Zootecnia Tropical*, está vigente desde el año 1983. Ambas publican trabajos originales que presentan nuevos conceptos o tecnologías en el área agrícola.

Agronomía Tropical aborda las áreas temáticas: recursos fitogenéticos, protección vegetal, economía agrícola, edafología, biotecnología agrícola vegetal, tecnología de alimentos, ingeniería agrícola y sistemas de producción agrícola vegetal.

Zootecnia Tropical se enfoca en las áreas de producción, salud, genética y reproducción animal de especies de interés zootécnico, tecnología de alimentos de origen animal, pastos, forrajes, acuicultura marítima y continental, entre otros temas de interés.

TIPO DE CONTRIBUCIONES

Las revistas *Agronomía Tropical* y *Zootecnia Tropical* publican cuatro categorías de contribuciones: artículos científicos, notas técnicas, artículo de revisión y trabajos especiales. Los artículos científicos y notas técnicas pueden tener un enfoque cuantitativo o cualitativo.

Artículo científico. Documento no mayor a 25 páginas, donde se presentan resultados originales e inéditos. También serán aceptados datos o resultados presentados en resúmenes de congresos o seminarios, a condición de que el artículo completo no aparezca en las memorias del mismo.

Nota técnica. Documento de corta extensión con un máximo de 10 páginas, que describe técnicas experimentales, equipos, fenómenos naturales, especies nuevas o resultados parciales de un trabajo de interés. El texto tendrá las mismas secciones del artículo científico.

Artículo de revisión y trabajo especial. Documento que presenta reportes y estadísticas de un área temática actualizada de interés colectivo, de orden científico-técnico, con relevancia nacional o internacional en el cual el autor presenta un análisis crítico sobre un tema prioritario o emergente. Este será solicitado por el Comité Editorial a especialistas de trayectoria profesional y experiencia demostrada. Será sometido a las normas de revisión para un artículo científico y su extensión no debe ser mayor a 25 páginas, incluyendo cuadros y figuras.

REMISIÓN DE ARTÍCULOS

Las Revistas *Agronomía Tropical* y *Zootecnia Tropical* recibirán sus trabajos a través de los correos electrónicos: agronomia.tropical.inia@gmail.com o zootropi@gmail.com, de acuerdo al área de interés. Las contribuciones podrán ser presentadas en español, inglés o portugués, acompañadas de la Carta de Fe, firmada por todos los autores, además de la planilla de datos de cada uno.

PROCESO EDITORIAL

Los trabajos recibidos serán evaluados inicialmente por el Comité Editorial, aquellos trabajos que superen la evaluación preliminar serán arbitrados por tres especialistas en el área de conocimiento, mediante el método de "doble ciego". Una vez que el autor reciba las observaciones de los evaluadores,

tiene un plazo de 30 días para incorporar las modificaciones sugeridas en el texto y remitir la versión corregida a la revista. Transcurridos 30 días sin recibir respuesta de los autores, el Comité Editorial retirará el trabajo. Es importante destacar que el arbitraje es una orientación para aceptar o rechazar el documento y el Comité Editorial se reserva el derecho de seleccionar los artículos que cumplan con los criterios de calidad y pertinencia establecidos por las revistas.

El Comité Editorial tiene la potestad de ajustar el artículo para mantener la uniformidad de estilo de la revista, después de la edición y corrección de estilo, los autores recibirán la prueba de galera, la cual debe ser cuidadosamente revisada y devuelta al editor en un término máximo de una semana.

Los trabajos que no superen la evaluación preliminar o el proceso de arbitraje serán devueltos a los autores, con notificación de no publicable en la revista. Las apelaciones deben presentarse ante el Editor Jefe, quien revisará la apelación conjuntamente con el Comité Editorial y emitirá un dictamen en un plazo de dos semanas.

FORMATO.

Los borradores deben ser escritos utilizando los procesadores de textos, como Libre Office Writer o Microsoft Office Word®. Las páginas serán numeradas consecutivamente en el lado inferior derecho, al igual que cada línea del texto, con inicio desde el título; fuente Arial tamaño 12; interlineado 1,5; márgenes a 2,5 cm por los cuatro lados.

En relación con los encabezamientos, el título de la contribución es el único de primer orden, se escribirá centrado en negrilla con la primera letra en mayúscula. Los títulos principales de sección (segundo orden): Resumen, Introducción, Materiales y métodos, Resultados y discusión, Conclusiones, Agradecimientos y Literatura citada, se indicarán centrados en negrilla y mayúsculas. El título de tercer orden, alineado a la izquierda, en negrilla y sólo la letra inicial en mayúscula; el texto continuará debajo del título. El título de cuarto orden, alineado a la izquierda, en negrilla seguido de un punto y sólo la letra inicial en mayúscula, el texto continuará en la misma línea

Los cuadros se presentarán en el mismo archivo del texto, acompañados del respectivo título, ubicado en la parte superior, el cual debe ser concreto y expresar el contenido del mismo, en letra Arial tamaño 11; identificados progresivamente con números arábigos, con orden de aparición inmediatamente después del párrafo donde se menciona por primera vez. El contenido de los cuadros no debe ser duplicado en las figuras. El encabezado de las columnas debe ser conciso e indicar claramente las unidades en que se expresa el contenido. El significado de las abreviaturas utilizadas se desarrollará como pie de cuadro. Cuando se presenten resultados numéricos, deben ir acompañados del nombre de la prueba estadística realizada. Los cuadros serán elaborados utilizando aplicaciones tales como Libre Office Writer, Microsoft Office Word®, Libre Office Calc o Microsoft Office Excel®; y no ser presentados en forma de imagen escaneada.

Las figuras se refieren a cualquier ilustración que se incluya en el trabajo como: gráficos, dibujos, fotografías, esquemas, mapas u otras representaciones, indicadas consecutivamente en el texto. El título se debe colocar en la parte inferior, en letra Arial tamaño 11. Las fotografías se deben presentar en formato JPEG y los gráficos, mapas, dibujos otras representaciones se presentarán en formato PNG. Además de los cuadros y figuras insertados en el texto, deben enviarse los archivos originales en el formato en el que fueron elaborados. Todos los cuadros y figuras deben estar indicados en el texto.

Título. Se presentará en español, inglés o portugués, con su respectiva traducción, cónsono con el idioma del manuscrito. Identifica y describe el contenido del trabajo, sin abreviaturas, con un máximo de 20 palabras. Los nombres científicos se incluirán solo para especies poco comunes o cuando sea indispensable.

Autor(es) y afiliación (es). Nombres y apellidos completos en minúsculas a excepción de las iniciales. Cuando los autores publican con dos apellidos, deben estar separados con un espacio, salvo aquellos apellidos extranjeros o que por tradición utilicen el guion. Se acompañarán con números en superíndices para identificar la institución a la que pertenece(n) el(los) autor(es) y correos electrónicos. Se incluirá el nombre completo de la institución y sus siglas entre paréntesis, ciudad y país. El autor de correspondencia se identificará con un asterisco.

Resumen, Abstract o Resumen. Párrafo entre 200 y 250 palabras, claro y comprensible. Los estudios con enfoque cuantitativo deben indicar brevemente: problema y justificación, objetivo(s), métodos experimentales, resultados y conclusiones, sin exceder el uso de valores numéricos. Para estudios con enfoque cualitativo se deben indicar: objeto de estudio, propósito, metodología, resultados y aproximaciones. El idioma del resumen será como se indica a continuación:

Idioma del trabajo	Idioma del resumen
Español	Español e Inglés
Inglés	Inglés y Español
Portugués	Portugués, Inglés y Español

Palabras clave. Se recomiendan términos simples o compuestos (máximo 6), que permitan identificar el contenido del artículo y que no hayan sido usados en el título. Para seleccionar las palabras clave se sugiere consultar y usar los descriptores del tesoro multilingüe de agricultura (AGROVOC), creado por la FAO u otro similar. Se deben incluir los nombres científicos de los organismos biológicos como palabras clave. Disponible en: <http://aims.fao.org/es/agrovoc>

Introducción. Constituye una breve referencia de los antecedentes que motivaron la realización de trabajo; igualmente pueden incluirse la revisión de literatura con las investigaciones más recientes que aporten ideas fundamentales para la realización del trabajo. También incluirá el objetivo del mismo.

Materiales y Métodos o Metodología. Esta sección debe ser clara y precisa, de manera suficiente para permitir la repetitividad del ensayo. Para estudios con enfoque cuantitativo, seguir un ordenamiento lógico de las técnicas empleadas y los materiales utilizados. Los procedimientos analíticos y estadísticos utilizados tienen que ser citados como referencias bibliográficas, describiendo solo las modificaciones o lo novedoso. Las investigaciones de campo deberán incluir una breve descripción agroclimática de la localidad donde se efectuó el trabajo. Cuando las contribuciones tengan un enfoque cualitativo se debe indicar el marco teórico que describe brevemente conceptos y modelos que orientaron la investigación; así como métodos, técnicas y procedimientos de acopio de la información, al igual que de procesamiento y validación de datos.

Resultados y discusión o Resultados y hallazgos. El contenido debe ser coherente con los objetivos señalados en la introducción. Es necesario detallar los resultados en orden lógico y de forma objetiva y secuencial. La información cuantitativa se podrá presentar en cuadros y figuras. La literatura citada no debe exceder de tres autores por idea a discutir.

Conclusiones o Aproximaciones. Deben responder al problema de la contribución. Indicar, de manera breve y precisa, los hallazgos más relevantes de la investigación, es decir, aquellos que constituyan un aporte significativo para el avance del campo temático explorado, además de brindar orientación para futuras investigaciones. Las conclusiones o aproximaciones no deben ser ambiguas, ni basarse en suposiciones.

Agradecimientos. Se incluirán los reconocimientos a aquellas personas que hayan realizado contribuciones sustanciales al trabajo, como: técnicos, productores, comunidades y revisores, entre otros.

Igualmente, para reconocer a las instituciones que financiaron la investigación parcial o totalmente. El párrafo de esta sección debe ser breve, hasta un máximo de 10 líneas.

Literatura citada. Debe ser actualizada, con excepción de trabajos clásicos que se requiera incluir. Se debe ajustar al documento "Redacción de referencias bibliográficas: normas técnicas para ciencias agroalimentarias/IICA, CATIE" (2016). 5a ed. Disponible en: <http://repositorio.iica.int/bitstream/11324/6570/1/BVE18029707e.pdf>

CONSIDERACIONES DE ESTILO

- La redacción del manuscrito será en voz activa y se debe utilizar la forma impersonal o tercera persona del singular.
- Restringir el uso del gerundio, utilice esta forma verbal únicamente para demostrar dos acciones que se realizan a la vez.
- Las palabras cuadro y figura se escriben, en el texto, con la primera letra en mayúscula.
- Las siglas deben ser escritas en mayúscula y entre paréntesis en su primera aparición en el texto y antecedidas por el término completo al que se refiere, a excepción de las unidades de medida.
- Los nombres de las variedades, cultivares e híbridos deberán acompañarse de comillas simples sólo cuando se mencionen por primera vez en el resumen, abstract o cuerpo del artículo. Esto siempre y cuando no le anteceda la palabra variedad o cultivar, en cuyo caso no se utilizarán.
- Los suelos deben ser identificados taxonómicamente; si el nombre de la serie no es conocido, deberá señalarse la familia.
- Los nombres de productos comerciales deben evitarse, utilizándose el nombre genérico o principio activo. En caso de ser estrictamente necesario, su uso debe acompañarse por el símbolo®.
- Los símbolos no tienen plural ni llevan punto (.) después de estos, y solo se escriben en mayúsculas aquellos derivados de nombre propios (Celsius, Kelvin, Joule, entre otros). Las siglas tampoco tienen plural, esto se mostrará con las palabras acompañantes, ejemplo: los SNP.
- Los decimales se deben separar con coma (,) y las unidades de mil o millón se expresarán con punto (.).

Nomenclatura. Se recomienda el uso del Sistema Métrico Decimal (SI) para la expresión de las unidades. Para los trabajos, los autores utilizarán las convenciones del International Code of Botanical Nomenclature, el International Code of Nomenclature of Bacteria, y el International Code of Zoological Nomenclature. Para la nomenclatura química se utilizará la International Union of Pure and Applied Chemistry, así como la Commission on Biochemical Nomenclature.

Para la nomenclatura de genes y proteínas, se recomienda utilizar los símbolos internacionalmente aceptados; los símbolos específicos pueden ser obtenidos en la base de datos de genes de Pubmed <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>. Las normas de nomenclatura para ganado y otras especies están disponibles en <http://www.genenames.org>, mientras que para ratones y ratas están disponibles en <http://www.informatics.jax.org/mgihome//nomen/strains.shtml>.

En cuanto a los polimorfismos nucleotídicos simples (SNP), deben ser identificados con su número de referencia único (rs) o el número de presentación (ss), como se indica en la base de datos pública dbSNP <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>.

En referencia a la nomenclatura de las mutaciones y otras variaciones en la secuencia de ADN, favor visitar www.hgvs.org/ página oficial de la Genome Variation Society (HGVS).

A continuación, se presenta una lista de abreviaturas y símbolos para la expresión de términos y unidades de medida de uso común:

Término	Símbolo	Término	Símbolo
Metros sobre el nivel del mar	m.s.n.m.	Población total	N
Índice de conversión	IC	Probabilidad	P
Peso al nacer	PN	Coefficiente de variación	CV
Peso al destete	PD	Coefficiente de correlación	r
Bloques multinutricionales	BM	Coefficiente de determinación	R2
Consumo de materia seca	CMS	Desviación estándar	DE
Energía digestible	ED	Error experimental	EE
Energía metabolizable	EM	Grados de libertad	GL
Fibra ácido detergente	FAD	Heredabilidad	h2
Fibra de detergente neutra	FDN	Materia Orgánica	MO
Ganancia diaria de peso	GDP	Materia Seca	MS
Aminoácido	aa	Nitrógeno no proteico	NNP
Ad libitum	Ad lib	Proteína Cruda	PC
Ácido Graso Volátil	AGV	Cantidad de sustancia	mol
Partes por millón	ppm		

Unidad	Símbolo	Unidad	Símbolo
Gramo	g	Hora	h
Kilogramo	kg	Minuto	min
Gramos por kilogramo	g.kg ⁻¹	Segundo	s
Miligramos	mg	Porcentaje	%
Kilocalorías	kcal	Por mil	‰
Kilogramo por hectárea	kg.ha ⁻¹	Hectárea	ha
Kilómetro	km	Tonelada	t
Litro	L	Tonelada por hectárea	t.ha-1
Gramos por litro	g.L ⁻¹	Grados Celsius	°C
Mililitros	mL	Grados Fahrenheit	°F
Mililitros por litro	mL.L ⁻¹	Grados Kelvin	°K
Metro	m	Joule	J
Metro cuadrado	m ²	Milímetro	mm
Metro cúbico	m ³	Micrometro	µm
Decímetro	dm	Miliequivalente	meq
Centímetro	cm	Caloría	cal

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Autoría. Se incluirán como autores a las personas que hayan realizado contribuciones en la formulación del ensayo, diseño experimental, obtención de data cruda, aplicación del método estadístico, análisis de datos, interpretación de resultados, así como redacción del manuscrito o investigación bibliográfica.

Originalidad. Los trabajos sometidos para arbitraje y probable publicación deben ser inéditos, por lo tanto, se presentará una carta de fe donde el (los) autor(es) manifiestan que el mismo no ha sido enviado a otra(s) revista(s).

Integridad. La alteración de resultados y el plagio (alusión de resultados de otros investigadores sin dar crédito con la cita bibliográfica correspondiente) se considera inadmisibles y no ético.

Conflicto de intereses. Los autores presentarán por escrito, no mantener vínculos de interés comercial o personal en la investigación que dio origen al manuscrito sometido.